Proteinqualitätsuntersuchungen an einer bakteriellen Einzellerbiomasse

Reinhard Müller-Landau

1979

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547009_0035

Aus dem Institut für Physiologie, Physiologische Chemie
und Ernährungsphysiologie
im Fachbereich Tiermedizin der Universität München
Geschäftsführender Vorstand: Prof. Dr. H. Zucker
Arbeit angefertigt unter Leitung von Prof. Dr. H. Erbersdobler

Proteinqualitätsuntersuchungen an einer bakteriellen Einzellerbiomasse

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde des
Fachbereichs Tiermedizin
der Ludwig - Maximilians - Universität München

von
Reinhard Müller - Landau
aus München
München 1978

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs
Tiermedizin der Universität
München

Dekan: Prof. Dr. H. Kräußlich
Referent: Prof. Dr. H. Erbersdobler
Korreferent: Prof. Dr. D. Hegner

Tag der Promotion: 23. Februar 1979

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

DISSERTATIONS– UND FOTODRUCK FRANK oHG
8 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2 8 0 9 0 9 0

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis Seite

1. Einleitung 1

2. Besprechung der Literatur 3

2.1. Bedeutung und Möglichkeiten der Produktion von Single-Cell Proteinen (SCP) 3

2.1.1. Technik der mikrobiellen Proteingewinnung 4

2.1.2. Bisheriger Anwendungsbereich für SCP-Produkte 5

2.2. Proteinqualität sowie hygienische und toxikologische Aspekte beim Einsatz von Einzellerproteinen 6

2.3. Möglichkeiten und Methoden der Proteinbewertung bei SCP-Produkten 11

2.3.1. Richtlinien der Protein-Calorie Advisory Group zur Prüfung unkonventioneller Proteine 11

2.3.2. Versuchsmethoden zur tierexperimentellen Proteinbewertung 12

2.3.2.1. Die Ratte als Modelltier für die Proteinqualitätsuntersuchungen 12

2.3.2.2. Die Verfahren zur Proteinbewertung im einzelnen 13

3. Eigene Untersuchungen 19

3.1. Untersuchungsmaterial 19

3.2. Untersuchungsmethoden 21

3.2.1. Rohprotein- und Aminosäurenanalysen 21

3.2.2. Tiermaterial und Haltung der Versuchstiere 22

3.2.3. Versuchsrationen 23

3.2.4. Auswertung und statistische Berechnungen 25

3.3. Ergebnisse 26

3.3.1. Aminosäurenzusammensetzung von U_{100} und $U_{96\ W}$ 26

3.3.2. Aminosäurenbilanzuntersuchungen 28

3.3.3. Biologische Wertigkeit und Netto Protein Utilisation 34

3.3.4. Wachstumsversuch bei ad libitum Fütterung 37

3.3.5. Wachstumsversuch bei begrenzter Fütterung 41

3.3.6. Aminosäurenanflutung im Pfortaderblut 45

4. Diskussion und Schlußfolgerungen 51

5. Zusammenfassung 62

6. Literaturverzeichnis 66

1. Einleitung

Obwohl die Ernährung des Menschen in den Industrieländern derzeit gesichert ist, erscheint es dringend notwendig, für die zukünftige Eiweißversorgung schon jetzt Vorsorge zu treffen. Angesichts einer weiterhin rasch wachsenden Weltbevölkerung kann man erwarten, daß bis zum Jahr 2000 ca. 6 Milliarden Menschen ernährt werden müssen (102). Diesem Wachstum steht mit Sicherheit keine entsprechende Zunahme der Nahrungsmittelproduktion gegenüber (14,38,49, 114). Das gilt besonders für die Entwicklungsländer,wo durch das allzu rasche Bevölkerungswachstum eine Stagnation der Kalorien- und Eiweißzufuhr besteht. In Europa wird die Produktion von pflanzlichen Proteinen wegen der ständigen Verringerung der landwirtschaftlichen Nutzfläche eher abnehmen. Dadurch wächst die Abhängigkeit vom Weltnahrungsmarkt. Dessen Hauptlieferanten sind nur einige wenige Länder, die Überschüsse an Getreide und pflanzlichen Proteinen (z.B. Soja) produzieren.

Als Maßnahme zur Verbesserung der Proteinversorgung bietet sich für die Entwicklungsländer eine Erweiterung der landwirtschaftlichen Produktionsfläche an. Die Möglichkeit, nutzbaren Boden zu erschließen, ist dort erst zu einem Teil ausgeschöpft (108). Allerdings fehlen hierzu vielfach die nötigen Investitionen und Fachleute. In Europa könnten die Erträge praktisch nur durch verstärkte Forschung auf den Gebieten der Pflanzengenetik und -technologie intensiviert werden. Außerdem sind Einsparungen durch sinnvolle Wiederverwendung von Abfällen und verwertbar gemachten Abfallstoffen aus der tierischen und pflanzlichen Produktion möglich (122). Einen nicht zu unterschätzenden Beitrag für die zukünftige Proteinver-

sorgung könnte die mikrobielle Proteingewinnung erlangen. (18, 26,31,33,39,62,64,85,105,120). Durch die Verwendung von Single-Cell Proteinen (SCP) in der Tierernährung wäre zusätzliches tierisches Eiweiß verfügbar. Zum Teil könnten diese Produkte nach entsprechender Behandlung und Zubereitung direkt der Ernährung des Menschen dienen.

Das obige Institut führt bereits seit ca. 8 Jahren Untersuchungen mit Single-Cell Proteinen durch. In analytischen und tierexperimentellen Versuchen wurde in dieser Zeit Eiweiß aus Hefen [+](5,6,7,8,21,37,38,44,111), Bakterien [++](9, 10,39) und Algen [+++](39) geprüft. Seit ca. 3 Jahren laufen im Rahmen eines Forschungsvorhabens Untersuchungen an einer neuen bakteriellen Einzellerbiomasse. Als Ziel wird dabei angestrebt, generelle Aussagen über die Brauchbarkeit in der Ernährung von Mensch und Tier geben zu können. In der vorliegenden Arbeit wurde die Proteinqualität dieses Single-Cell Produkts analytisch und am Modelltier Ratte untersucht.

[+] "Toprina", "Lavera"; British Petroleum Company (BP)
[++] "Pruteen"; Imperial Chemical Industries (ICI)
[+++] Scenedesmus obliquus 276-3a; Abteilung für Algenforschung und Algentechnologie Dortmund der Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung mbh München.

2. Besprechung der Literatur

2.1. Bedeutung und Möglichkeiten der Produktion von Single-Cell Proteinen (SCP)

Die von den Mikroorganismen großtechnisch produzierte Biomasse wird unter dem Begriff "Einzellerprotein" (engl. Single-Cell Protein - SCP) zusammengefaßt. Der Begriff SCP entstand 1966 als Titel für die erste internationale Konferenz auf diesem Gebiet. Er umfaßt alle mikrobiellen Proteine, die aus Hefen, Bakterien, Pilzen oder Algen kultiviert werden. Der Ausdruck "Einzeller - Biomasse" charakterisiert das Produkt besser, da es sich nicht um reine Proteine, sondern um die ganzen Zellen der Mikroorganismen, mit einem allerdings hohen Eiweißanteil, handelt.

Die Tatsache, daß Mikroorganismen Kohlenwasserstoffe als Energiequelle nützen können, wurde bereits 1913 von Söhngen (107) gefunden. Er beobachtete den Verbrauch von Methan durch Bakterien. Die "Domestikation" von Mikroorganismen z.B. zur Met-, Brot- oder Weinproduktion besteht schon seit Jahrtausenden. Verfahren wie die Käsereifung oder die Alkoholherstellung sind ohne Hilfe der Einzeller undenkbar. In fermentierten Nahrungsmitteln oder Getränken sind allerdings nur die Stoffwechselprodukte der Mikroorganismen erwünscht. Die Biomasse wird eliminiert oder ist nur unvermeidlicher Bestandteil. Bei der SCP-Produktion wird dagegen die Gewinnung der Zellmasse selbst zum Ziel des Verfahrens. Die Idee dazu stammte von Alfred Champagnat (23), der Anfang der 60iger Jahre Mikroorganismen einsetzte, um Dieselöl von störenden Paraffinen zu reinigen. Bei der Suche nach der Lösung eines anderen Problems legte er auf diese Weise den Grundstein für die großtechnische Herstellung von Einzellerproteinen. Damit war ein prinzipiell neuer Weg zur Proteinerzeugung bei minimaler Beanspruchung von Land und Boden, unabhängig von Klima oder geographischer Situation, beschritten.

2.1.1. Technik der mikrobiellen Proteingewinnung

Kernstück einer Produktionsanlage für SCP ist der sogenannte Fermenter, ein Tank, in dem die Mikroorganismen in einer Nährlösung schwimmen. Nährstoffe sind hauptsächlich verschiedene Kohlenstoffquellen, Stickstoff, meist in Form von NH_3 und Sauerstoff. Dazu kommen Mineralsalze, insbesondere Phosphate und verschiedene Vitamine. Die Fermentation muß zumeist unter sterilen Bedingungen durchgeführt werden, um eine Kontamination mit Fremdkeimen zu verhindern. Bei Einhaltung optimaler Temperaturen und eines günstigen pH-Bereichs vermehren sich die Mikroorganismen mit einer gegenüber Nutztieren erheblich größeren Wachstumsgeschwindigkeit von mehreren Zehnerpotenzen (93). Zur Ernte aus dem Fermenter wird das in Wasser emulgierte Produkt von den Substratresten gereinigt, zentrifugiert und getrocknet. In Abbildung 1 sind die einzelnen Schritte - Nährstoffzufuhr, Fermentation und Aufarbeitung - am Beispiel der Hoechst/ Uhde SCP-Technologie auf Methanolbasis (93) dargestellt.

Von den Bakterien, Hefen, Pilzen und Algen haben besonders die ersten beiden Gruppen wirtschaftliche Bedeutung erlangt. Bis auf Algen, die Sonnenlicht umsetzen können, dadurch aber standort- und klimaabhängig sind, benötigen Mikroorganismen zum Wachstum Energieträger. Das sind entweder einfachere Substrate, hauptsächlich N-Alkane, Gasöl, Methan (Erdgas), Methanol, Äthanol oder weniger definierte Produkte wie z.B. Zellulose (86). Aber auch Abfälle aus der Tierproduktion oder sogar aus kommunalen Abwässern könnten auf diese Weise wieder sinnvoll verwertet werden (recycling) (122). Von den vielen Substraten wird das Methanol langfristig besonders gut beurteilt (25,88). Eine größere Anzahl von Rohstoffen wie Erdgas, Erdöl, Kohle oder Holz lassen sich zu Methanol verarbeiten. Die großen Erdölgas-

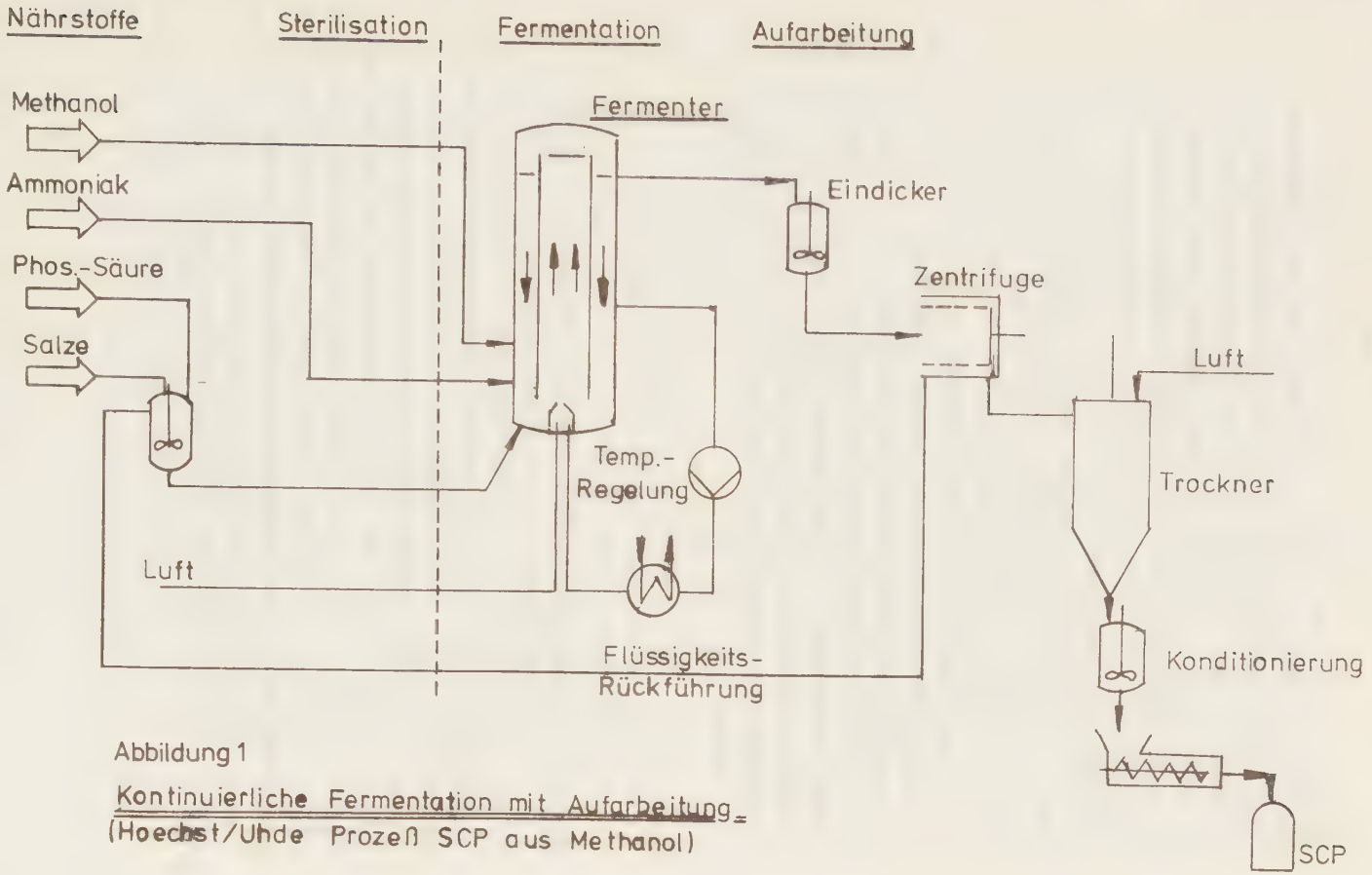


Abbildung 1

Kontinuierliche Fermentation mit Aufarbeitung
(Hoechst/Uhde Prozeß SCP aus Methanol)

vorkommen im mittleren Osten könnten auf diese Weise genutzt werden (70). Es bestehen aber auch technologische Vorteile bei der Verarbeitung. Die gute Wasserlöslichkeit des Methanols erleichtert nicht nur das Einbringen in die Nährlösung, sondern auch die Abtrennung vom Produkt bei der Ernte. Methanol kann in chemisch sehr reiner Form produziert werden und ist frei von kanzerogenen aromatischen Kohlenwasserstoffen.

Neben den Herstellungskosten für die Ausgangsmaterialien und den Investitionskosten spielt der Energiebedarf für die SCP-Produktion eine wichtige Rolle. Nach Präve (86) liegen die Energiekosten günstiger als die für die Herstellung tierischen Proteins, wenn rationell arbeitende Anlagen mit kontinuierlicher Prozeßführung benutzt werden. So konnten z.B. vier Fünftel des Energiebedarfs herkömmlicher Rührkessel durch Entwicklung eines neuen "Schlaufenreaktors" eingespart werden (93). Bei diesem wird die Strömungsbewegung bzw. Durchmischung des Inhalts durch Luft erzeugt, die mit hohem Druck von unten eingeblasen wird.

2.1.2. Bisheriger Anwendungsbereich für SCP-Produkte

Bei der Eiweißgewinnung durch Hefen liegen hinsichtlich Produktion und Qualität die längsten Erfahrungen vor. Back- und Bierhefe sind schon seit langem Bestandteil in der Ernährung des Menschen. Die "Torula"- Hefe aus Sulfitlauge wurde schon vor dem 2. Weltkrieg durch industrielle Fermentation hergestellt und als Futtermittel verwendet. Die "Toprina"- Hefe, das Produkt der Firma BP auf der Basis von N-Alkanen, ist in Deutschland sogar als Futtermittel zugelassen. In Grangemouth (Schottland) und in Lavera (Frankreich) wurde sie seit Mitte der 60iger Jahre mit einer Kapazität von 4000 t bzw. 16 000 t pro Jahr produziert. Wegen der hohen Substrat- und Produktionskosten scheint

zur Zeit keine rentable Herstellung möglich zu sein. Für Länder, denen aus Devisenknappheit der Einkauf von Soja und Getreide am Weltmarkt schwerfällt, sind die Voraussetzungen für Single-Cell Proteine günstiger. In den Ostblockstaaten entstehen nach vorsichtigen Schätzungen (93) Großanlagen, die bereits 1980 ca. 200 000 - 600 000 Jahrestonnen produzieren werden. Auch in Japan ist die Technologie soweit fortgeschritten, daß bis 1985 mehrere Gesellschaften zusammen vermutlich ca. 300 000 t herstellen werden.

Algen sind in Japan und in einigen Entwicklungsländern schon lange Bestandteil der Nahrung des Menschen. Wegen ihrer Abhängigkeit vom Klima nehmen sie unter den mikrobiellen Proteinen eine Ausnahmestellung ein. In Deutschland betreibt die Gesellschaft für Algenforschung und Algentechnologie in Dortmund seit mehreren Jahren Freilandversuche an Standorten in Deutschland, Indien, Thailand und Peru (106).

Die kommerzielle Produktion von bakterieller Biomasse wird, abgesehen von einer Anlage der Firma ICI mit einer Kapazität von 75 000 t/a, noch in verhältnismäßig geringem Maßstab genutzt. Seit Mai 1978 läuft in Deutschland eine Pilotanlage der Firmangruppe Hoechst/Uhde mit einer Jahreskapazität von 1000 t. Die dritte Änderung der Futtermittelverordnung enthält bezüglich Anlage 1 (Einzelfuttermittel) bereits die Position:"Einzellerprotein, getrocknet, aus Methanol fermentiert durch Pseudomonas methanolica". Das SCP-Produkt der Firma ICI ("Pruteen") wird damit voraussichtlich ab 1.1.79. zugelassen.

2.2. Proteinqualität sowie hygienische und toxikologische Aspekte beim Einsatz von Einzellerproteinen

Wie aus Tabelle 1 hervorgeht, wird die Forderung nach hohem Eiweißanteil und günstiger Aminosäurenzusammen-

Tabelle 1: Rohprotein- und essentielle Aminosäurengehalte einiger mikrobieller Proteine aus verschiedenen Mikroorganismen im Vergleich mit Casein[+].

	Algen	Hefen	Bakterien	Pilze	Casein[+]
Handelsname	- -	"Toprina"	"Pruteen"	"Pekilo"	- -
Rohprotein-gehalt in %	56-62	61	75	48	91
Aminosäuren-gehalt in g/16g N					
Methionin	1,4	1,7	2,2	1,7	3,0
Cystin	0,4	1,0	0,7	0,9	0,4
Lysin	4,6	8,2	6,0	5,6	8,5
Threnonin	4,6	5,1	4,4	4,2	4,4
Valin	6,5	5,6	5,8	4,3	7,4
Isoleucin	6,0	4,8	4,9	3,9	5,9
Leucin	8,5	7,5	7,0	6,3	10,1
Phenylalanin	5,0	4,5	3,5	3,6	5,6
(Histidin)[++]	1,8	2,2	2,1	1,8	3,5
(Arginin)[++]	6,5	5,0	4,7	5,8	4,1
Quelle	Soeder (1976)	Beck et al (1973)	Erbersdobler (1977)	Braude (1976)	
Gattung	Spirulina maxima	Candida trop.	Pseudomonas	Paecilomyces	- -

[+]Säurecasein sprüh, Qualität A-Firma Meggle 8094 Reitmehring. Das in den Versuchen der vorliegenden Arbeit verwendete Casein enthielt außerdem (g/16g N) Asparaginsäure 7,4; Glutaminsäure 22,8; Prolin 10,4; Serin 5,8; Glycin 2,4; Alanin 3,5 .

[++]Die in Klammern gesetzten Aminosäuren sind semiessentiell, insbesondere für wachsende Säugetiere; Arginin ist für das Geflügel essentiell.

setzung bereits von einigen Mikroorganismen erfüllt. In Tab. 1 wird der Rohprotein- und Aminosäurengehalt einiger mikrobieller Proteine im Vergleich zu Casein dargestellt. Der Rohproteingehalt, Hauptkomponente der Mikroorganismen, schwankt zwischen 48 % und 75 %. Die essentiellen Aminosäuren sind in hoher Konzentration vorhanden. Sie liegen zwar unter den als günstig anzusehenden Werten für Casein, können aber mit denen von pflanzlichen Proteinen guter Qualität verglichen werden. Lysin erreicht, das Algenprotein ausgenommen, hohe Konzentrationen; in der "Toprina"- Hefe sogar 8,2 g/16g N. Allgemein besteht ein Defizit an schwefelhaltigen Aminosäuren Methionin und Cystin. Sie decken in keinem der Produkte den Bedarf der wachsenden Ratte, bzw. den der meisten Nutztiere. Das für Geflügel essentielle Arginin ist an zweiter Stelle limitierend.

Der Futterwert der Einzellerproteine hängt sehr stark von der Aufbereitung der Zellmasse ab. Frische Algen können zum Beispiel nur unzureichend verwertet werden, weil die Zellwände für die Verdauungsenzyme nur schwer angreifbar sind (74,75,117). So konnten Bock und Wünsche (17) die scheinbare Proteinverdaulichkeit eines walzengetrockneten Algenmehls durch Zellaufschluß von 26 % auf 79 % erhöhen. Bei den Hefen und Bakterien ist die Streuung der Versuchsergebnisse in erster Linie auf die Art der Mikroorganismenstämme und die Auswahl der Rohstoffe zurückzuführen. So reichen die von Beck (6) aus der Literatur zusammengestellten Daten für die scheinbare Verdaulichkeit des Rohproteins bei Hefen von 59 % bis über 90 %. Die überwiegende Zahl der Ergebnisse lag aber zwischen 80 % und 90 %. In Tabelle 1 wird auch ein Pilzprotein ("Pekilo") dargestellt. Nach Fütterungsversuchen an Schweinen zu urteilen, war es trotz des niedrigen Rohproteingehaltes von nur 47 % und einem Rohfaseranteil von 6,1 % im Futter-

wert mit Fischmehl vergleichbar.
Bei den Bakterienprodukten haben sich besonders die Arten Bacillus, Hydrogenomonas, Pseudomonas, Methanomonas und Methylomonas bewährt (54). Bisherige Versuche an Ratten (Ågren 1974, Palmer und Smith 1971, Schulz 1975), Mastschweinen (Roth und Kirchgeßner 1977, D'Mello 1976), Ferkeln (Whittemore et al 1976) und Mastküken (Erbersdobler et al 1975) unterstreichen die hohe biologische Wertigkeit der bakteriellen SCP.

Tabelle 2: Vergleich der N-Bilanzergebnisse dreier Autoren von Bakterienproteinen auf Methanolbasis (in %).

	Rohproteinverdaulichkeit scheinb. / wahre		BW[+]	NPU[++]
Roth und Kirchgeßner 1977 (an Schweinen)	86	92	68	64
Schulz 1975 (an Ratten)	87	96	79	76
D'Mello 1976 (an Schweinen)	94	98	68	66

+;++ Biologische Wertigkeit und Netto Protein Utilisation, Erklärung s. Seite 16.

In Tabelle 2 sind einige Bilanzergebnisse von Bakterienproteinen auf Methanolbasis dargestellt. Für die scheinbare Rohproteinverdaulichkeit wurden Werte von 86 % - 94 %, für die wahre Verdaulichkeit von 92 % - 98 % erreicht. Die günstigen Ergebnisse von D'Mello (29) stammen aus Versuchen an einer nicht näher erläuterten halbgereinigten Biomasse. Für die biologische Wertigkeit und die Netto Protein Utilisation liegen die Werte von Schulz(99) mit 79 bzw. 76 am höchsten.

Hygienische und toxikologische Aspekte

Obwohl viele Tierversuche erfolgreich verliefen, können Single-Cell Proteine noch nicht uneingeschränkt zur Ernährung des Menschen oder in der Tierernährung eingesetzt werden(41).Dafür sind verschiedene Gründe verantwortlich. Alle Mikroorganismen können aus ihrer Umwelt - Wasser, Nährsubstrate, Luft - Schadstoffe anreichern. Dazu zählen insbesondere toxische Spurenelemente wie Cadmium, Blei und Quecksilber, aber auch kanzerogene aromatische Kohlenwasserstoffe. Bei Algen ist die Kontamination wegen der offenen Produktionsweise besonders problematisch (77,106). Sie benötigen neben den genannten klimatischen Voraussetzungen auch aus dieser Sicht geeignete Standorte. Aber auch im "geschlossenen System" lassen sich Kontaminationen nur unter großem Aufwand verhindern, wenn das Wasser oder die Luft verunreinigt sind.

Ein wichtiger Aspekt bei der Bewertung von Einzellerproteinen ist ihr Nukleinsäurengehalt. Er nimmt in der Reihenfolge Algen (4%), Hefen (6-12%), Pilze (10%) zu und kann bei Bakterien bis zu 20% in der Trockensubstanz erreichen. Als Abbauprodukt des Purinanteils der Nukleinsäuren entsteht im Organismus des Verbrauchers Harnsäure. Der menschliche Organismus, dem das Enzym Uricase fehlt, kann die Harnsäure nicht weiter abbauen und scheidet sie über den Harn aus. Bei entsprechend hoher Belastung wird sie im Körper abgelagert und kann zu dem als Gicht bekannten Krankheitsbild führen. Die meisten Nutztiere können Harnsäuren in das besser wasserlösliche Allantoin umwandeln und leichter ausscheiden.

Die hohen Nukleinsäurengehalte der SCP-Produkte begrenzen die Verwendungsmöglichkeiten in der Ernährung des Menschen, da man insbesondere unter dem Aspekt der tolerierbaren Gesamtbelastung des Organismus Einzelkomponenten mit so hohen Nukleinsäurenanteilen ablehnen muß.

2.3 Möglichkeiten und Methoden der Proteinbewertung bei SCP-Produkten

Wie aus dem zuletzt dargestellten Kapitel hervorgeht, sind besonders bei neuen SCP-Produkten umfassende Untersuchungen notwendig, um deren Brauchbarkeit als Nahrungs- bzw. als Futtermittel und vor allem deren toxikologische Unbedenklichkeit nachzuweisen.

2.3.1. Richtlinien der Protein-Calorie Advisory Group zur Prüfung unkonventioneller Proteine

Die Protein-Calorie Advisory Group (PAG) of the United Nations System hat zur Untersuchung mikrobieller Proteine entsprechende Richtlinien (123,124) ausgearbeitet. PAG Guideline Nr. 6 ("Pre-Clinical Testing of Novel Food Proteins") und Nr. 15 ("Nutritional and Safety Aspects of Novel Protein Sources for Animal Feeding") beinhalten unter anderem den Einsatz in der Tierernährung.PAG Guideline Nr. 6 stellt gleichzeitig die Voraussetzung für PAG Nr. 7 ("Human Testing") dar. Bei den Richtlinien handelt es sich um unverbindliche Empfehlungen. Die Proteinqualitätsuntersuchungen stellen dabei nur ein Teilgebiet dar. Für sie werden im großen und ganzen die klassischen analytischen und biologischen Methoden empfohlen. Bei den chemischen Analysen stehen Bestimmungen des Rohproteins, der Aminosäurenzusammensetzung und des Nukleinsäurenanteils im Vordergrund.

Zu den chemischen Analysen des Eiweißanteils gehören:

a.) Hydrolyse des Stickstoffanteils und chromatographische Bestimmung der Aminosäuren. Die Aminosäuren sollen über N x 6,25 ausgedrückt werden, ihr prozentualer Anteil vom Rohproteingehalt berechnet werden (= Angabe in g/16g N).

b.) Bestimmung des Lysingehalts mit Dinitrofluorbenzol nach Carpenter (22) als Aussage über die Verfügbarkeit des Lysins. Diese Methode stellt gleichzeitig eine Qualitätskontrolle für den Produktionsablauf bzw. für verschiedene Präparationen dar, weil Lysin durch Hitzeschädigung gebunden wird und damit für den Organismus, aber auch für Dinitrofluorbenzol, nicht mehr verfügbar ist.

c.) Bestimmung von eventuell auftretenden Nicht-Protein-N Anteilen (NPN) wie Glucosamine, Amide und Amine.

Für die Durchführung der Tierexperimente werden Ratten und andere Labortiere empfohlen. An ihnen soll das Produkt als einzige Proteinquelle wie auch in Mischung mit anderen Futterproteinen getestet werden. Empfohlen wird ferner, die Versuche auch an den Nutztieren vorzunehmen, die später als Konsumenten des neuen Nahrungsmittels in Frage kommen.

Für die Bestimmung des Nährwerts werden Wachstumsversuche an Ratten vorgeschlagen, wobei das Testprotein in suboptimaler Menge verfüttert werden soll. Die Versuchsrationen sollen an Gruppen von je 10 wachsenden Ratten (40-50 g) über einen Zeitraum von 28 Tagen mit Proteinanteilen von 9 - 10% ad libitum gefüttert werden.

2.3.2. Versuchsmethoden zur tierexperimentellen Proteinbewertung

2.3.2.1. Die Ratte als Modelltier für Proteinqualitätsuntersuchungen

Seit Beginn des Jahrhunderts wird die Ratte wegen ihres geringen Futter- und Raumbedarfs aber auch wegen des geringeren finanziellen Aufwandes bei Versuchen mit Labortieren eingesetzt. Eggum (32) wies darauf hin, daß Ratten den Vorteil haben, auch über längere Zeit einseitig zusammengesetztes oder wenig schmackhaftes Futter zu ertragen. Diese Fähigkeit kann möglicherweise Mangelerscheinungen verschleiern, was allerdings kaum für Proteinqualitätsmessungen gilt. Die Übertragbarkeit der bei der Ratte gewonnenen Ergebnisse auf das Nutztier und den Menschen ist in prinzipiellen Fragen sicherlich möglich. Nehring (69) weist auf die bei Ratte

und Schwein ähnlich ablaufenden Verdauungsvorgänge hin. Slump (109) sowie Münchow und Bergner (67) fanden bei Ratte und Schwein in der Verdaulichkeit für Rohprotein und Aminosäuren ähnliche Werte. Das stimmt teilweise mit Untersuchungen von Poppe und Meier (82) überein. Für das Schwein wurden dabei etwas höhere Verdaulichkeitswerte als bei der Ratte gefunden, während das Huhn vergleichsweise niedrig lag. Nach Hegstedt (50) und Bernhart (15) bestehen Ähnlichkeiten zwischen Mensch und Ratte im Proteinstoffwechsel. Die Ratte wächst allerdings schneller und benötigt mehr Lysin und Methionin. Für einen exakten Vergleich müßte der Aminosäurenbedarf auf die Gewichtszunahme oder das metabolische Körpergewicht ($G^{0.75}$) bezogen werden. Absolutangaben über den Bedarf und ähnliche Daten sollte man jedoch nicht vergleichen.

2.3.2.2. Die Verfahren zur Proteinbewertung im einzelnen

Wachstumsversuche: Im Wachstumsversuch werden die Zunahme oder der Verlust an Körpersubstanz in Beziehung zu der Menge und der Qualität des aufgenommenen Proteins gesetzt. Auch in der Praxis der landwirtschaftlichen Produktion ist das Wachstum, d.h. der Zuwachs an Körpersubstanz von größter Bedeutung. Zusätzliche Kriterien ergeben sich aus entsprechenden Forderungen an die Schlachtkörperzusammensetzung, insbesondere an das Fleisch - Fettverhältnis (Protein-Fettansatz) sowie die Fleischqualität. Neben der Gewichtsentwicklung wird auch die Futterverwertung (g Futteraufnahme / g Zunahme) beurteilt. Sie berücksichtigt die unterschiedliche Energiedichte und zum Teil auch den Einfluß von Geschmack und Annehmbarkeit der Diät. Bei Untersuchungen an Versuchsrationen, die ungern verzehrt werden, ist es jedoch vorteilhafter, an alle Tiere gleiche Futtermengen zu verabreichen (restricted feeding oder paired feeding). Aussagen über die Leistung pro Einheit aufgenommener Proteinmenge erhält man aus der Protein Efficiency Ratio (PER) nach Osborne und Mendel (73) :

$$\text{PER} = \frac{\text{Gewichtszunahme in g}}{\text{Proteinaufnahme in g}}$$

Voraussetzung zum Vergleich ist allerdings ein ähnliches Fett-, Kalorien- und Mineralstoffverhältnis, sowie ein konstanter Proteingehalt.

Die Richtlinien der Protein-Calorie Advisory Group empfehlen, die Versuchsergebnisse mit einer Casein gefütterten Kontrollgruppe zu vergleichen, deren PER-Wert auf 2,5 berichtigt wird. Damit sollen mögliche labor- und versuchsbedingte Unterschiede ausgeglichen werden.

Ein Nachteil der Wachstumsversuche besteht darin, daß Wachstum nicht immer gleichbedeutend mit Proteinansatz ist, sondern auch erhöhte Wassereinlagerung bzw. Fettbildung bedeuten kann. Außerdem wird beim Wachtumsversuch der N-Erhaltungsbedarf der Tiere - Minimalzufuhr zur Aufrechterhaltung einer ausgeglichenen N-Bilanz (s. Seite 17)- nicht mit-gemessen. Das Verhältnis des N-Zuwachses zum N-Erhaltungsbedarf ist somit sehr unsicher und von verschiedenen äußeren Einflüssen, insbesondere von der Proteinzufuhr abhängig.

Verdaulichkeitsversuche: Die Verdaulichkeit gibt den Anteil eines Nährstoffs an, der durch die Verdauungsenzyme freigesetzt und resorbiert wird. Zur Bestimmung, z.B. der Verdaulichkeit des Rohproteins und der Aminosäuren wird deren Gehalt im Futter dem Anteil, der im Kot ausgeschieden wird, gegenübergestellt. Die Menge, die im Kot nicht wieder erscheint, wird als verdaut bezeichnet und allgemein in Prozent ausgedrückt. Die scheinbare Verdaulichkeit ergibt sich als Differenz zwischen Aufnahme und faekaler Ausscheidung nach folgender Formel:

$$\text{scheinb. Verdaulichkeit} = \frac{\text{Aufnahme-Ausscheidung im Kot}}{\text{Aufnahme}} \times 100$$

Nicht berücksichtigt wird dabei, daß der Kot auch N-verbindungen aus dem Stoffwechsel wie Verdauungssekrete oder abgestoßene Darmzellen (endogene Stoffwechselverluste) enthält. Zur Berech-

nung der wahren Proteinverdaulichkeit wird der Anteil dieser endogenen Ausscheidungen berücksichtigt (siehe S. 17).
Wahre Verdaulichkeit des Proteins =

$$= \frac{\text{Protein}_{\text{Aufn.}} - (\text{Protein}_{\text{Kot}} - \text{Protein}_{\text{Kot endogen}})}{\text{Protein}_{\text{Aufnahme}}} \times 100$$

Kuiken und Lyman (58) wendeten das System der Nährstoffverdaulichkeit auch bei den einzelnen Aminosäuren an, um auf diese Weise die Aminosäurenverfügbarkeit festzustellen. Die Verdaulichkeit und Resorption der einzelnen Aminosäuren aus verschiedenen Proteinträgern ist besonders intensiv von Poppe et al (65,79,80,81,83) studiert worden. Dabei zeigte sich bei allen Futtermitteln, daß die Verdaulichkeit des Rohproteins immer dem Durchschnittswert der Verdaulichkeit für die einzelnen Aminosäuren entsprach. Poppe und Maier haben auch die endogen ausgeschiedenen Darmaminosäuren bei Ratten (83) und Schweinen (80) untersucht und in ihre Kalkulationen einbezogen.
Zebrowska et al (121) fanden allerdings, daß die Aminosäurenzusammensetzung des Kotes von der des Futters weitgehend unabhängig ist und mehr von den Verdauungssekreten geprägt wird. Weitere Bedenken gegen die Bilanzierung der Aminosäuren beziehen sich auf die mikrobiellen Einflüsse in Caecum, Colon und Rectum (3,4,30,52,104). Durch die Darmflora können nicht absorbiertes Nahrungsprotein sowie Protein endogener Herkunft abgebaut bzw. neue Aminosäuren und Bakterieneiweiß synthetisiert werden. Andere Autoren (24,28,32,59,84,92) halten dagegen den Einfluß der Darmflora auf die Verdaulichkeit der Aminosäuren für gering. Nach den Untersuchungen von Eggum (32) beeinflußte die Ausschaltung der mikrobiellen Tätigkeit im Darm durch Antibiotika bei Ratten die Versuchsergebnisse nur in einer Höhe von 1 - 3%. Erbersdobler und Riedel (36) fanden zwischen konventionell und keimfrei gehaltenen Küken keine Unterschiede hinsichtlich der Aminosäurenverdaulichkeit. Es wurden bei diesen Versuchen allerdings relativ hohe Proteingehalte von knapp 40% in den Versuchs-

rationen verwendet, so daß der Aktivität der Darm - flora ein hohes Angebot an unverdautem Protein gegenübersteht. Beim Geflügel ist außerdem die Darmflora weniger aktiv als z.B. bei Ratte und Schwein. Die Einflüsse der Mikroorganismen auf die nicht verdauten Aminosäuren dürften damit beim Geflügel vergleichsweise gering sein.

Bilanzuntersuchungen: Genauere Aussagen über die Qualität des Proteins liefert die vollständige Stickstoffbilanz unter Einbeziehung des Harnstickstoffs. Erste in dieser Richtung weisende Versuche stammen von Thomas (110), der um 1909 das Konzept der biologischen Wertigkeit als Maß der Proteinqualität vorschlug und erprobte. Mitchell (66) übertrug dieses Konzept auf die wachsende Ratte und verbesserte bzw. verfeinerte das Untersuchungsverfahren. Die biologische Wertigkeit stellt den Prozentsatz des resorbierten Stickstoffs dar, der vom Körper für die Proteinsynthese genutzt und nicht im Urin ausgeschieden wird. Sie wird nach folgender Formel berechnet:

$$BW = \frac{N_{Aufn.} - (Kot_N - DVN) - (Harn_N - Harn_{N\ end.})}{N_{Aufn.} - (Kot_N - DVN)} \times 100$$

DVN = Darm-Verlust-Stickstoff
$Harn_{N\ end.}$ = Harn-Stickstoff endogener (metabolischer) Herkunft

Die Netto Protein Utilisation (NPU) stellt das Verhältnis des im Körper retinierten zum insgesamt aufgenommenen Stickstoff dar. Da die biologische Wertigkeit den N-Ansatz auf den resorbierten N-Anteil der Nahrung bezieht, läßt sich demnach die NPU aus dem Produkt der biologischen Wertigkeit mit dem Quotienten für die wahre Verdaulichkeit berechnen.

Bilanzmethoden haben den Nachteil, daß nur die Einnahmen und die Ausgaben gemessen werden, während über die Einzelvorgänge bei der Verdauung und Resorption oder im Organismus nichts ausgesagt wird. So wird z.B. die Proteinverdaulichkeit bzw.

die Untersuchungen zur Aminosäurenresorption durch die Aminosäuren-bzw. Stickstoffanteile endogenen Ursprungs erschwert. Bei den N-Bilanzversuchen muß zusätzlich der endogene Stickstoffanteil im Harn berücksichtigt werden. Aus diesen N-Verlusten bei der Verdauung (z.B. Darmabschilferungen, Verdauungssekrete) und im Stoffwechsel ergibt sich die auch Erhaltungsbedarf genannte Minimal-N-zufuhr für das Tier. Ihr Anteil wird an einer proteinfrei ernährten Kontrollgruppe gemessen. Dabei erhalten die Tiere über eine Zeit von 4-8 Tagen eine Ration, die bis auf den fehlenden Eiweißanteil dieselbe Zusammensetzung aufweist, wie die Ration mit dem zu prüfenden Eiweiß. Statt der proteinfreien Diät wird besonders bei wachsenden Versuchstieren für diesen Zweck eine Ration mit 4% Volleiprotein (Inhalt eines Hühnereis gefriergetrocknet und das Fett mit Diäthyläther extrahiert) verwendet. So behandeltes Volleiprotein ist zu 100% verdaulich, so daß es die Messung der endogenen N-Technik nicht stört, dem Versuchstier aber allzu große Körpersubstanzverluste erspart.

Neben diesen Methoden wurden in den letzten Jahren auch Messungen über die Konzentration freier Aminosäuren im Blut zur Proteinbewertung herangezogen. Durch Untersuchungen zur Aminosäurenanflutung im Pfortaderblut konnte man auch die relativen Aminosäurenmengen, die in den Blutkreislauf gelangen, messen. Als Kriterium wird hierbei die Konzentration freier Aminosäuren im Pfortaderblut nach Verabreichung einer Proteinmahlzeit an Ratten herangezogen. Verschiedene Faktoren (Strömungsgeschwindigkeit des Blutes,Kohlenhydrate, Fette, Vitamine und Mineralstoffe) welche die Aminosäurenanflutung beeinflussen, können unter kontrollierten Versuchsbedingungen weitgehend konstant gehalten werden. Durch Fütterung von proteinreichen Rationen (94) ist es möglich, eine hohe Aminosäurenkonzentration in der Pfortader zu erreichen (34, 95) und den Anteil der Aminosäuren aus dem Protein endogener

Herkunft gering zu halten.

Mit diesem Verfahren wurden besonders vergleichende Untersuchungen an hitzegeschädigten Modellproteinen durchgeführt (34,35). Über die Brauchbarkeit der Pfortadertechnik bei verschiedenen Eiweißquellen liegen keine übereinstimmenden Ergebnisse vor (42,68,72). Die Versuche anderer Autoren wurden zum Teil unter sehr unterschiedlichen Versuchsbedingungen durchgeführt. Dabei muß auch berücksichtigt werden, daß die Anflutung einer Aminosäure im Blut nicht nur von der Zusammensetzung des Nahrungsproteins abhängt, sondern auch vom momentanen Bedarf des Tieres für die Eiweißsynthese.

3. Eigene Untersuchungen

3.1. Untersuchungsmaterial

Die Firmengruppe Hoechst/Uhde entwickelte im Rahmen des Forschungsprojekts BCT-75 [+] ein Bakterienprotein auf Methanolbasis. Anfang 1976 wurden davon unserem Institut zwei Produktionschargen in einer Menge von 100 kg und 10 kg zur Verfügung gestellt. Entsprechend der internen Bezeichnung durch die Herstellerfirma werden sie mit SCP U_{100} bzw. $U_{96\ W}$ bezeichnet. Ihre Produktion erfolgte auf Methanol in einem Schlaufenreaktor (40). Über den Prozeßablauf informiert Abbildung 1. Der Bakterienstamm des Produkts ist als Methylomonas clara klassifiziert worden. Bei dem Material handelt es sich um ein feines, leicht bitter schmeckendes Pulver.

Rohnährstoffgehalt von U_{100} und $U_{96\ W}$

Die Untersuchungen des Rohnährstoff- und Mineralstoffgehaltes sind in Tab. 3 dargestellt. Für U_{100} und $U_{96\ W}$ wurden bei Berechnung über N x 6,25 Rohproteingehalte von 81,1 % bzw. 77,9 % ermittelt. Etwa 20 % des Gesamtstickstoffs stammen aus dem Nukleinsäurengehalt der beiden SCP-Produkte. Dies entspricht ca. 17 % vom "Rohproteinanteil". Der Rohfettanteil in der Trockenmasse betrug 10,2 % bzw 8,96 %. Im Fettsäurenmuster überwiegt der Anteil der geradzahligen Fettsäuren. Nach den Untersuchungen von Rambeck und Beck (87) machen die Palmitin- und die Palmitoleinsäure zusammen 80 - 90 % der Gesamtfettsäuren aus. Der Anteil der ungeradzahligen Fettsäuren liegt bei beiden Proben unter 2 %; verzweigte oder zyklische treten nicht in meßbarer Konzentration auf.

[+] Mit Unterstützung des Bundesministeriums für Forschung und Technologie

Tabelle 3: Rohnährstoff- und Mineralstoffgehalt in den SCP-Proben U_{100} und U_{96W}.
Alle Werte sind bezogen auf die Trockensubstanz.

Probe:	U_{100}	U_{96W}
In Prozent der Trocken-substanz von:	97,3 %	97,0 %
1. "Rohprotein" (N x 6,25)	81,1	77,9
2. Rohfett (Ätherextrakt nach Salzsäureaufschluß)	8,3	6,1
3. Asche	10,4	14,4
4. Differenz auf 100 (100-(1+2+3))+	0,2	1,6
Calcium	1,0	1,3
Phosphor	3,0	3,7
Natrium	0,3	0,3
Kalium	1,7	1,4
Magnesium	0,18	0,14
Eisen	0,12 - 0,13	0,13 - 0,16

+Üblicherweise als Kohlenhydrate oder N-freie Extraktstoffe bezeichnet. Bei dem hohen Anteil an Nukleinsäuren-N und dem deshalb nur bedingt brauchbaren Rohproteinwert erscheint die gewählte Bezeichnung zutreffender.

Von den Spurenelementen wird nur der Eisengehalt angegeben, da er bemerkenswert hoch mit Werten zwischen 0,12 % und 0,16 % liegt. Die übrigen Spurenelemente liegen im Rahmen erwartbarer Konzentrationen, wobei die toxischen Elemente in U_{100} (U_{96W}) für Blei 0,23 mg (0,33), für Cadmium

0,05 mg (0,05),Quecksilber 0,005 mg (0,0046) pro kg Trockensubstanz betragen. Beide Produkte haben hohe Gehalte an Vitaminen des B-Komplexes. Das gilt besonders für das Vitamin B_{12}, das in U_{100} in einer Menge von 0,23 mg pro kg Trockensubstanz vorkommt.

3.2. Untersuchungsmethoden

3.2.1. Rohprotein- und Aminosäurenanalysen

Der Rohproteingehalt in Futter, Kot und Harn wurde nach Kjeldahl an einer halbautomatischen Apparatur[+] bestimmt.

Bei diesem Gerät bleibt das Analysenprinzip nach Kjeldahl (55) im wesentlichen unverändert. Entscheidend besser sind Details des Arbeitsverfahrens, die Arbeitsbedingungen und die Meßgenauigkeit. Die Oxydation der organischen Bestandteile wurde mit einem Gemisch von konzentr. H_2SO_4 und 5 % H_3PO_4 unter Mitwirkung von H_2O_2 als Oxydationsmittel durchgeführt. Als Katalysator diente 0,01 g Selen. Zur Siedepunktserhöhung wurden 10g K_2SO_4 dazugegeben. Der Aufschluß im Heizblock erfolgte bei 370° bis zum Klarwerden der Probe (ca.2 Stunden). Zur Analyse kamen vom Futter bzw. Kot 1-2 g des feingemahlenen Untersuchungsmaterials. Vom Harn gelangte ein aliquoter Teil zur Stickstoffbestimmung. Zur Umrechnung auf den Gehalt an Rohprotein diente stets der Faktor 6,25.

Die Aminosäurenanalysen erfolgten an automatischen Aminosäurenanalysatoren nach dem Prinzip der Jonenaustauschchromatographie[++].

Jeweils 500 mg der analysenfein gemahlenen Probe wurden 24 Stunden mit 400 ml einer 6 N-Salzsäure bei Siedetemperatur hydrolysiert[+++].Anschließend wurde das Hydrolysat abgekühlt, mit aqua dest. auf 500 ml aufgefüllt und filtriert. Nach Zugabe eines inneren Standards (Norleucin) wurden davon je nach Proteingehalt 100 - 400 ml im Vakuumrotationsverdampfer bei maximal 60° auf 20 - 30 ml eingeengt und mit 20 %iger Natronlauge auf einen pH-Wert von ca. 1,8 gebracht.

Die schwefelhaltigen Aminosäuren Methionin und Cystin (Cystein) wurden nach Oxydation des Untersuchungsmaterials mit Perameisensäure mit anschließender Hydrolyse als

---

[+] Kjeltec system II; Firma Tecator, Hamburg

[++] Modell LC 6000, Firma Biotronic, München

[+++] Bei Proben mit erhöhtem oder unstabilem Wassergehalt wurde die Wasser- und Rohproteinbestimmung gleichzeitig mit der Einwaage zur Aminosäurenanalyse angesetzt.

Methioninsulfon- bzw. Cysteinsäure bestimmt. 0,1 ml des analysenfertigen Proteinhydrolysats wurden über einen automatischen Probenaufgeber in den Aminosäurenanalysator eingebracht.
Die Trennung und Bestimmung der Aminosäuren am Aminosäurenanalysator erfolgte nach dem sogenannten Einsäulenverfahren mit einem drei Puffer-(Natriumcitrat-Basis)- und drei Temperaturenprogramm.Die Auswertung der Extinktionswerte(Ninhydrinreaktion) erfolgte über ein Rechner-Integrator-System[+].

Auch die Tryptophanbestimmung erfolgte ionenaustauschchromatographisch am Aminosäurenanalysator nach vorheriger Hydrolyse des Proteins mit Bariumhydroxid.

Der Gehalt an verfügbarem Lysin wurde nach der Dinitrofluorbenzolmethode (22) festgestellt.

Zur Bestimmung der Konzentration freier Aminosäuren im Blutplasma wurden die Blutproben mit Heparin als Antikoagulans versetzt. Nach Abkühlung im Eisbad und Zentrifugation (15 min. bei 6000 U/min) wurden 2 ml Plasma abpipettiert und mit 8 ml einer 3 %igen Sulfosalicylsäure versetzt. Nach erneuter Zentrifugation wurden 5 ml des Überstandes mit Citratpuffer pH 1,8 auf ein Volumen von 10 ml gebracht. 1 ml dieser Lösung konnte anschließend nach Filterung ohne weitere Behandlung in die Aminosäurenapparatur gebracht werden.

3.2.2. Tiermaterial und Haltung der Versuchstiere

Als Versuchstiere dienten in allen Versuchen männliche Albinoratten (Stamm Sprague Dawley)[++]. Alle Fütterungsversuche erfolgten in Anlehnung an die Richtlinien des Arbeitskreises für Proteinbewertung der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie der Haustiere (43).
Die Tiere wurden in Einzelkäfigen auf Drahtrosten gehalten. Der Versuchsraum war lichtkontrolliert (12 Stunden Licht/Tag) und hatte eine konstante Temperatur von 21°.
Für die N-Bilanzversuche kamen Stoffwechselkäfige nach Schiller (97) zum Einsatz. Diese Käfige ermöglichen eine brauchbare Kot- und Harntrennung. Sie wurden dem Gewicht der Ratten entsprechend in zwei verschieden großen aber sonst gleichen Ausführungen hergestellt. Handhabung und Bauweise im einzelnen sind von Gunsser ausführlich dargestellt (46).

[+] Autolab computing Integrator; Firma Spectra Physics, Darmstadt

[+] Firma Mus-Rattus, 8011 Brunnthal

3.2.3. Versuchsrationen.

Die in den Versuchen verwendeten Futterrationen unterschieden sich bis auf geringe Ausnahmen nur in der Art und Höhe des eingesetzten Proteinträgers. Die Zusammensetzung der verwendeten Futtermischungen ist in Tabelle 5 gemeinsam dargestellt. Die Proteinträger wurden zumeist entsprechend ihrem Reinproteinanteil (Aminosäuren- + NH_3-N x 6,25) eingesetzt, da insbesondere bei den SCP-Produkten der Rohproteingehalt wegen des großen Nukleinsäurenanteils nicht den realen Eiweißwert repräsentiert.

Tabelle 4: Übersicht der in allen Versuchen verwendeten Mineralstoff- und Vitaminvormischungen

Die Mineralstoffmischung enthielt in 60 g(= pro kg der fertigen Mischung) :

15,000 g $CaCO_3$	0,480 g Fe-Zitrat
14,000 g $Ca_5(PO_4)_3(OH)$	0,450 g $MnSO_4 \cdot 4\ H_2O$
13,000 g K_2HPO_4(sicc.)	0,040 g $ZnCO_3$
8,000 g NaCl	0,0195g $CuSO_4 \cdot 5\ H_2O$
4,000 g Na_2HPO_4 (sicc.)	0,0005g KJ
5,000 g $MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$	0,010 g NaF
	60,000 g

Bei den SCP-Rationen wurden nicht 6%, sondern lediglich 4,5% dieser Mischung + zusätzlich 0,5% $CaCO_3$ eingemischt, um dem hohen Phosphorgehalt des SCP Rechnung zu tragen.

Die Vitaminvormischung auf Maisstärke enthielt in 2 g (= pro kg der fertigen Mischung) :
Vitamin A: 10 000 I.E.; Vitamin D_3: 1000 I.E.; Vitamin E: 25 mg;Vitamin K_3: 2 mg; Thiamin: 25 mg; Riboflavin: 15 mg; Pyridoxin: 8 mg; Nikotinsäure: 100 mg; Ca-Pantothenat: 20 mg; Vitamin B_{12}: 30 mcg; Folsäure: 4 mg; Biotin: 300 mcg; Cholinchlorid: 2 g; Ascorbinsäure: 25 mg.

Tabelle 5 :

Zusammensetzung der in den Versuchen eingesetzten Futtermischungen (in %)

	U_{100} / U_{96} W				Casein				Protein-freie Ration
	AS-Bilanz	Wachstum	N-Bilanz	Pfortader	AS-Bilanz	Wachstum	N-Bilanz	Pfortader	
Proteinträger	15,5^{+}	15,5^{+}	12,5^{+++}	86^{++}	11,5^{+}	11,5^{+}	12,0^{+++}	62^{++}	- -
Saccharose	10,0	10,0	10,0	5,0	10,0	10,0	10,0	5,0	10,0
Zellulose	3,0	3,0	3,0	2,0	3,0	3,0	3,0	2,0	2,0
Sojaöl	4,0	4,0	4,0	2,0	5,0	5,0	5,0	10.0	5,0
Mineralstoffmischung	4,5	4,5	4,5	4,0	6,0	6,0	5,0	5,0	5,0
Vitaminvormischung	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2.
Ca Co_3	0,5	0,5	0,5	0,7	-	-	-	-	-
Maisstärke ad 100	62,3	62,3	65,3	0,1	64,3	64,3	64,8	15,8	77,8
	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

$^{+}$
$^{++}$ entsprechend einem Beitrag an Reinprotein zur Ration von $^{+}$10 % ; $^{++}$55 %.
$^{+++}$entsprechend 10 % Rohprotein

Für die Aminosäuren-Bilanzversuche diente zur Messung des Erhaltungsbedarfs eine proteinfreie Diät in gleicher Zusammensetzung aber ohne Proteinträger. Für die N-Bilanzversuche wurde dafür eine Ration mit 4%igem Volleiprotein eingesetzt. Das Hühnereiprotein wurde durch Gefriertrocknung des Inhalts frischer Hühnereier und anschließende Entfettung mit Diäthyläther an der Soxlethapparatur hergestellt.

Zahlreiche Faktoren wie Futterzubereitungsart, Käfigsysteme, Analytik und Umweltbedingungen beeinflussen die Versuchsergebnisse. Deshalb wurde zum Vergleich ein methioninergänztes Säurecasein[+] mitgeführt. Alle Futterrationen wurden von unserem Institut selbst gemischt, und auf ihre Nährstoffzusammensetzung, insbesondere die zu messenden Bestandteile, untersucht. Auf Einzelheiten über Futterzuteilung und Versuchsdurchführung wird in den jeweiligen Versuchen näher eingegangen.

3.2.4. Auswertung und statistische Berechnung

Bei den Ergebnissen sind neben den Mittelwerten auch die Standartabweichungen der Einzelwerte angegeben. Mit dem H-Test (Kruskal und Wallis, 1952) (s.91) wurde geprüft, ob zwischen den Versuchsgruppen Unterschiede vorhanden waren. Zur statistischen Auswertung und Prüfung, zwischen welchen Gruppen signifikante Unterschiede bestanden, wurde mit dem U-Test (Wilcoxon, Mann und Whitney) (91) weitergerechnet. Die Höhe der Signifikanz wird bei den Ergebnissen mitangegeben.

[+] Säurecasein Sprüh-Qualität A, Firma Meggle, 8094 Reitmehring, ergänzt mit 1 % (bezogen auf Proteinanteil) DL-methionin.

3.3. Ergebnisse

3.3.1. Aminosäurenzusammensetzung von U_{100} und $U_{96\ W}$

Tabelle 6: Aminosäurengehalt in den SCP-Produkten U_{100} und $U_{96\ W}$. Aminosäurenwerte in % der Trockensubstanz; in % des Rohproteins (= in g/16g N) und in % des "Reinproteins" (= in g/16g AS-N).

	U_{100}			$U_{96\ W}$		
Aminosäuren	in g/ 100g TS	in g/ 16g N	in g/16g AS-N+	in g/ 100g TS	in g/ 16g N	in g/16g AS-N+
Methionin	1,7	2,1	2,7	1,6	2,1	2,7
Cystin	0,4	0,5	0,6	0,5	0,6	0,8
Lysin	4,6	5.7	7,2	4,6	5,9	7,7
verfügbares Lysin(DNFB-Methode)	3,7	4,6	5,8	3,7	4,8	6,1
Tryptophan	1,6	2,0	2,4	1,6	2,1	2,6
Threonin	3,5	4,3	5,5	3,3	4,2	5,4
Valin	4,7	5,8	7,3	4,3	5,5	7.0
Isoleucin	3,5	4,3	5,4	3,1	4,0	5,1
Leucin	5,6	6,9	8,7	5,0	6,4	8,3
Phenylalanin	3,3	4,0	5,1	3,1	4,0	5,1
Tyrosin	2,5	3,1	3,8	2,4	3,1	3,9
Arginin	3,6	4,4	5,5	3,2	4,1	5,2
Histidin	1,4	1,8	2,2	1,4	1,8	2,3
Asparaginsäure	7,0	8,6	10,8	6,7	8,5	11,0
Glutaminsäure	6,7	8,3	10,4	6,8	8,7	11,2
Serin	2,7	3,4	4,3	2,4	3,1	4,0
Glycin	4,4	5,4	6,8	4,0	5,1	6,5
Alanin	5,4	6,6	8,3	4,8	6,2	8,0
Prolin	3,1	3,8	4,8	2,4	3,1	4,0
NH_3	1,6	2,0	2,5	1,5	1,9	2,5

+Summe des Aminosäuren-N + NH_3-N

In Tab. 6 sind die Aminosäurenwerte von U_{100} und U_{96} W bezogen auf Trockensubstanz, Rohprotein und Reinprotein dargestellt. Im Aminosäurenmuster der beiden Single - Cell Proteine bestehen nur geringfügige Unterschiede. Lediglich der Leucinwert ist bei U_{100} etwas höher. Im Chromatogramm wurden neben den dort aufgeführten Aminosäuren, insbesondere bei Verwendung spezieller Trennungsverfahren noch einige weitere ninhydrinpositive Substanzen gefunden. Eine davon war die bei Bakterien recht häufige α-ε-Diaminopimelinsäure (DAP), die in einer Konzentration von ca. 0,4 % nachgewiesen wurde. Dieser Wert entspricht einer Konzentration, bezogen auf den Rohprotein (N x 6,25)- Anteil des SCP von 0,5 %.
Eine weitere ninhydrinpositive Substanz wurde als Ornithin identifiziert, aber noch nicht quantifiziert. Bei zwei weiteren ninhydrinpositiven Substanzen dürfte es sich um Aminozucker (Glucosamin bzw. Galaktosamin) handeln. Eine genaue Zuordnung und mengenmäßige Bestimmung erfolgte bei diesen Substanzen noch nicht.

3.3.2. Aminosäurenbilanzuntersuchungen

Einleitung: In Bilanzversuchen mit Ratten wurde die scheinbare und die wahre "Verdaulichkeit" des Rohproteins und der Aminosäuren bestimmt. Die Bilanzierung der Aminosäuren erfolgte hauptsächlich deshalb, um eine vom Nukleinsäuren-N getrennte Bilanzierung zu ermöglichen.

Versuchsanordnung: Zwei Gruppen von je 5 Ratten mit einem Anfangsgewicht von 220 ±3g wurden zur Bestimmung der Nährstoffverdaulichkeit 14 Tage in den bei Gunsser (46) beschriebenen Bilanzkäfigen nach Schiller (97) gehalten. Die Tiere bekamen täglich und zur selben Zeit 11g Futter. Diese Rationsmenge erwies sich als günstig, um Gewichtsverluste oder übermäßige Zunahmen zu verhindern. Mit dieser begrenzten Futteraufnahme war auch der störende Einfluß unterschiedlicher Trockensubstanzaufnahmen auf die Magen - Darmpassage, auf die Verdaulichkeit und somit auf die Höhe des Darmverlust-N ausgeschaltet. Über die Zusammensetzung der Versuchsrationen informierte bereits Tab. 5 auf Seite 24.
Die beiden Produkte U_{100} und $U_{96\ W}$ wurden mit und ohne Methioninergänzung (0,1 %) getestet. Als Vergleichsprotein diente methionergänztes Säurecasein. Die Bilanzmessungen erfolgten nach einer 7-tägigen Adaptationszeit an Futter und Käfige (sog. Vorperiode). Der anschließende Hauptversuch dauerte 5 Tage. Während dieser Zeit wurde der Kot täglich von jedem Tier getrennt gesammelt und bei - 20° aufbewahrt. Nach Ende der Sammelperiode wurde er fein gemahlen und kam, um N-Verluste zu vermeiden, ohne weitere Vorbehandlung zur Analyse. Die Trockensubstanzbestimmung erfolgte mit 3g Frischkot bei 105° bis zur Gewichtskonstanz. Stickstoffgehalt, Trockensubstanz und Aminosäurenzusammensetzung wurden anhand der bereits

beschriebenen Methoden (siehe S.20) ermittelt. Nach erneuter Eingewöhnung konnte für eine weitere Testdiät eine Sammelperiode durchgeführt werden. Zur Bestimmung der sogenannten wahren Verdaulichkeit erhielt stets eine Gruppe von Ratten eine proteinfreie Diät. Aus dieser N-freien Ration wurde der Gehalt an Darm-Verlust-Aminosäuren endogener Herkunft gemessen und für die Berechnung der wahren Verdaulichkeit eingesetzt (s.Tab.8).

Ergebnisse: Die Ergebnisse der Aminosäurenbilanzuntersuchungen sind aus den Tabellen 8,9 und 10 ersichtlich. Die Werte für U_{100} und U_{100}+ Methionin, sowie $U_{96\ W}$ und $U_{96\ W}$+ Methionin unterschieden sich nur geringfügig. Aus diesem Grunde wurden die Verdaulichkeitswerte bei allen Aminosäuren mit Ausnahme von Methionin für die Gruppen SCP sowie SCP + Methionin zusammengefaßt angegeben.
Die scheinbare Verdaulichkeit war insgesamt hoch. Sie lag für die Trockensubstanz von U_{100} und $U_{96\ W}$ bei 89 % bzw 88 % und damit signifikant (α=0,02) unter dem entsprechenden Vergleichswert für Casein (92 %). Etwas größere Unterschiede zeigten sich bei der scheinbaren Verdaulichkeit des Rohproteins. Hier erreichten U_{100} und $U_{96\ W}$ nur 82 % bzw 81 % gegenüber Casein mit 87 %.

Für die Berechnung der wahren Verdaulichkeit mußte der endogene Kot - Stickstoff berücksichtigt erden. Sein Anteil wurde mit der proteinfrei ernährten Tiergruppe bestimmt. Die Ratten schieden dabei 17 ±2 mg N pro Tag aus. Nach Abzug dieser Menge vom Gesamt - N im Kot erhöhten sich die Verdaulichkeitswerte um ca. 10 %. Für die Ergebnisse der wahren Verdaulichkeit von den Aminosäuren gingen die Darmverlust-Aminosäuren (s.Tab. 7) in

die Berechnung[+] ein. Die Durchschnittswerte der wahren Verdaulichkeit für die einzelnen Aminosäuren beider SCP - Produkte lagen bei 82 % und 86 %. Das sind 8 bzw. 7 Einheiten weniger als die entsprechenden Ergebnisse von Casein (90 % und 93 %).

Tabelle 7 : Endogener Anteil der Aminosäuren im Kot, in g pro 100 g proteinfreier Trockenfutteraufnahme (in g).

Asparaginsäure	0,100	Isoleucin	0,037
Methionin	0,013	Leucin	0,055
Threonin	0,044	Tyrosin	0,040
Serin	0,049	Phenylalanin	0,039
Glutaminsäure	0,114	Lysin	0,053
Glycin	0,048	Histidin	0,016
Alanin	0,061	Arginin	0,040
Valin	0,060	DAP	0,008

[+] Wenn man die Stickstoffanteile der Darmverlust-Aminosäuren summiert, dann erhält man 10,6 mg N pro Tag (ohne Prolin und Tryptophan) oder ca. 60 % des gesamten Darmverlust-Stickstoffs (s. oben).

Tabelle 8 : Verdaulichkeit der Trockensubstanz und des Rohproteins (N x 6,25) in U_{100}, U_{100}+ Methionin, $U_{96\ W}$, $U_{96\ W}$+ Methionin sowie Casein + Methionin. n=5 pro Gruppe; Werte in Klammern = Relativwerte zu Casein.

Versuchsrationen:	Casein	U_{100}	$U_{96\ W}$	U_{100} + Methionin	$U_{96\ W}$ + Methionin	Protfrei
1.Futteranalyse (in %)						
Trockensubstanz:	91	92	91	91	91	91
Rohprotein:	10,2	12,3	11,9	12,2	12,3	0,3
2.Tägliche Rohproteinaufnahme: (g/Tier)	1,12	1,35	1,31	1,34	1,35	0,03
3.Tägliche Rohproteinausschdg.: (g/Tier)	0,15 ±0,03	0,25 ±0,03	0,25 ±0,03	0,25 ±0,02	0,24 ±0,05	0,106 ±0,05
4.Scheinbare Verdaulichkeit (in %)						
Trockensubstanz:	92 ±1 (100)a+	89 ±1 (97)b	88 ±1 (96)b	89 ±1 (97)b	89 ±1 (97)b	90 ±1 (98)ab
Rohprotein:	87 ±1 (100)a+	81 ±1 (93)b	81 ±1 (93)b	81 ±2 (93)b	82 ±2 (94)b	- -
5.Wahre Verdaulichkeit (in %)						
Rohprotein:	96 ±1 (100)a+	89 ±1 (93)b	89 ±1 (93)b	89 ±2 (93)b	90 ±2 (94)b	- -

+Werte mit unterschiedlichen Buchstaben in einer Zeile unterscheiden sich signifikant (U-Test nach Wilcoxon, Mann und Whitney, für $\alpha = 0,02$).

Tabelle 9: Scheinbare Verdaulichkeit der Aminosäuren in den SCP-Produkten U_{100} und $U_{96\ W}$ sowie in Casein (in %) n = 6-9; bei Methionin = 4).
Werte in Klammern = Relativwerte zu Casein (= 100).

	U_{100}	$U_{96\ W}$	Casein
Methionin	86 ±2 (93)	81 ±4 (88)	92 ±2 (100)
Cystin	79 ±2 -	82 ±3 -	-
Lysin	85 ±1 (89)	86 ±2 (90)	96 ±1 (100)
Tryptophan	nicht bestimmt		
Threonin	79 ±2 (89)	81 ±2 (90)	90 ±2 (100)
Valin	82 ±2 (90)	77 ±5 (87)	91 ±1 (100)
Isoleucin	83 ±2 (97)	80 ±2 (95)	86 ±2 (100)
Leucin	82 ±2 (87)	85 ±2 (90)	94 ±1 (100)
Phenylalanin	78 ±2 (83)	79 ±0 (84)	94 ±0 (100)
Tyrosin	78 ±2 (85)	81 ±4 (88)	92 ±1 (100)
Arginin	86 ±1 (93)	88 ±4 (96)	92 ±1 (100)
Histidin	88 ±1 (92)	90 ±2 (94)	96 ±0 (100)
Asparaginsäure	82 ±2 (94)	81 ±3 (93)	87 ±1 (100)
Glutaminsäure	84 ±2 (92)	83 ±1 (91)	91 ±0 (100)
Serin	74 ±2 (90)	74 ±3 (90)	82 ±2 (100)
Glycin	80 ±2 (98)	81 ±2(100)	81 ±5 (100)
Alanin	85 ±1(105)	83 ±4(102)	81 ±4 (100)
Mittelwert	82 (91)	82 (91)	90 (100)

Tabelle 10: Wahre Verdaulichkeit der Aminosäuren in den SCP-Produkten U_{100} und $U_{96\ W}$ sowie in Casein (in %) (n = 6-9;bei Methionin = 4).
Werte in Klammern = Relativwerte zu Casein (= 100)

	U_{100}	$U_{96\ W}$	Casein
Methionin	86 ±4 (91)	82 ±4 (87)	94 ±2 (100)
Cystin	82 ±5 -	85 ±3 -	-
Lysin	89 ±1 (90)	89 ±2 (90)	99 ±1 (100)
Tryptophan	nicht bestimmt		
Threonin	84 ±2 (89)	84 ±3 (89)	94 ±2 (100)
Valin	86 ±2 (91)	84 ±5 (89)	94 ±1 (100)
Isoleucin	86 ±2 (96)	85 ±4 (94)	90 ±2 (100)
Leucin	86 ±2 (89)	88 ±2 (91)	97 ±1 (100)
Phenylalanin	81 ±2 (84)	84 ±1 (87)	97 ±1 (100)
Tyrosin	82 ±2 (86)	85 ±4 (89)	95 ±1 (100)
Arginin	90 ±1 (95)	90 ±4 (95)	95 ±1 (100)
Histidin	92 ±1 (93)	93 ±2 (94)	99 ±0 (100)
Asparaginsäure	86 ±2 (92)	85 ±3 (91)	93 ±1 (100)
Glutaminsäure	88 ±2 (94)	87 ±1 (93)	94 ±0 (100)
Serin	78 ±2 (91)	80 ±3 (93)	86 ±2 (100)
Glycin	84 ±2 (98)	83 ±2 (97)	86 ±5 (100)
Alanin	88 ±1(105)	87 ±1(103)	84 ±4 (100)
Mittelwert	86 (92)	86 (92)	93 (100)

3.3.3. Biologische Wertigkeit und Netto Protein Utilisation

Versuchsanordnung: Zehn wachsende Ratten mit einem Durchschnittsgewicht von 77 ±4g wurden in zwei möglichst gewichtsgleiche Gruppen zu je fünf Tieren aufgeteilt. Die Zusammensetzung der Futterrationen ist aus Tabelle 5 ersichtlich. In einer Vorperiode von 7 Tagen gewöhnten sich die Tiere an die Stoffwechselkäfige und das Testfutter. Während dieser Zeit und der nachfolgenden 5tägigen Hauptperiode erhielten die Tiere Futter und Wasser zur freien Aufnahme. Im Gegensatz zur begrenzten Fütterung änderten sich desnalb Körpergewicht, Wachstumsrate und Proteinaufnahmen während des Versuchs erheblich. Damit waren auch die metabolischen bzw. endogenen Stickstoffanteile in Kot und Harn nicht mehr konstant. Sie wurden aus diesem Grund und wegen der Länge des Versuchs in zwei gesonderten Bilanzperioden ermittelt. Diese wurden vor und nach den Perioden mit den Testproteinen durchgeführt. Als Proteinquelle hierfür diente gefriergetrocknetes und entfettetes Hühnerei, das im Futter zu 4 % enthalten war. Der in diesen zwei Versuchen bestimmte Harn endogener Herkunft wurde auf g pro Tag, der metabolische Kot-N auf g/100g Futter (91% Trockensubstanz) bezogen.
Beide für jede Ratte ermittelten Werte wurden in ein Koordinatensystem eingetragen und durch eine Gerade miteinander verbunden. Während des Haupversuchs (Testdiät) konnten auf der Basis des mittleren Gewichts für jede Ratte die für sie gültigen Werte abgelesen werden. Zur Vermeidung allzu hoher Gewichtszunahmen wurde Casein nur in einer Fütterungsperiode untersucht.

Ergebnisse: Die Proteinfreie Versuchsperiode wurde bei allen 10 Ratten durchgeführt. Die metabolische Darm-

verlust-N Ausscheidung betrug bei einem mittleren Körpergewicht der Tiere von 78 g in der ersten Periode 154 ±5 mg und bei 141 g Körpergewicht im zweiten Versuch 166 ±4 mg pro 100 g aufgenommenem Futter (Trockensubstanz 91 %). An endogenem Harn-N wurde bei den gleichen Körpergewichten 13,7 ±2 mg bzw. 20,2 ±1 mg Stickstoff pro Tag ausgeschieden.

Die Futteraufnahme lag bei den SCP-Produkten erheblich niedriger als beim Casein. In der N-Bilanz wirkte sich dies jedoch nicht störend auf die Leistungsdaten aus, da die N-Aufnahme von jedem Tier mit in die Berechnung einging. Außerdem wurde der Erhaltungsstoffwechsel der Tiere über die endogenen N-Anteile im Kot berücksichtigt. Wie die Ergebnisse zeigen, unterschieden sich U_{100} sowohl in der Verdaulichkeit als auch in der biologischen Wertigkeit signifikant vom Casein ($\alpha = 0{,}02$). Durch die Methioninergänzung (1 % vom Rohproteinanteil) wurde allerdings die Proteinqualität des SCP deutlich gesteigert. Die biologische Wertigkeit von U_{100} + Methionin erhöhte sich von 69 auf 85 und unterschied sich nicht mehr signifikant (für $\alpha = 0{,}02$) von Casein (88).

Setzte man Casein gleich 100, so erreichte U_{100} + Methionin das Casein in der wahren Verdaulichkeit zu 94 %, in der BW zu 97 % und in der NPU zu 91 %. Nach Methioninergänzung verringerte sich bei U_{100} die Harn-Stickstoffausscheidung um 43 %. Das Ergebnis des Kot-N Anteils veränderte sich erwartungsgemäß nicht.

Tabelle 11: Ergebnisse der N-Bilanzversuche: Scheinbare Verdaulichkeit, wahre Verdaulichkeit, Biologische Wertigkeit und Netto Protein Utilisation von U_{100}, U_{100} + Methionin, sowie Casein + Methionin (n = 10, für Casein n = 5 Tiere. In Klammern = Relativwerte zu Casein (100).

	U_{100}	U_{100} + Methionin	Casein
in mg			
N-Aufnahme	1019 ±92	1030 ±116	1402 ±37
Kot - N	172	180	144
Kot - N (Futteranteil)	79	81	78
Harn - N	421	235	261
Harn - N (Futteranteil)	329	142	171
in %			
Scheinbare Verdaulichkeit	83 ±2 (92) a+	83 ±3 (92) a	90 ±0 (100) b
Wahre Verdaulichkeit	92 ±2 (93) a+	93 ±4 (94) a	99 ±0 (100) b
Biologische Wertigkeit	69 ±5 (78) a+	85 ±2 (97) b	88 ±2 (100) b
Netto Protein Utilisation	63 ±8 (68) a+	80 ±4 (91) b	88 ±2 (100) c

+Werte mit unterschiedlichen Buchstaben in einer Zeile unterscheiden sich signifikant (U-Test nach Wilcoxon, Mann und Whitney, für $\alpha = 0{,}02$)

3.3.4. Beurteilung der Proteinqualität von U_{100} und $U_{96\ W}$ über die Gewichtszunahmen an wachsenden Ratten.

Einleitung: Die bisherigen Ergebnisse zeigten eine um ca. 10 % geringere Verdaulichkeit der beiden bakteriellen SCP - Produkte gegenüber dem Casein. In welcher Höhe sich das auf die Lebendmasseentwicklung auswirkt, sollte als weitere Problemstellung an wachsenden Ratten geprüft werden.

Versuchsanordnung: Die Proteinqualität der SCP - Produkte wurde mit und ohne Methioninergänzung festgestellt. Als Vergleichsprotein diente wieder methioninergänztes Säurecasein. Die Tiere wurden bei Ankunft in 5 gewichtsgleiche Gruppen (Anfangsgewicht 53 ± 2g) zu je 10 Tieren eingeteilt. Futter und Wasser konnten ad libitum aufgenommen werden.
Am 7.,14. und 21. Tag (Versuchsende) wurden die Ratten im Anschluß an 4stündiges Fasten gewogen. Gleichzeitig wurde der Futterverzehr festgestellt. Versuchskriterien waren Gewichtszunahmen, Futterverwertung (g Futteraufnahme/g Zunahme) und die Protein Efficiency Ratio (PER, siehe S.13). Die Zusammensetzung der Versuchsrationen zeigte Tab. 5 (s.S.24).

Ergebnisse : Die Versuchsrationen sind in Tab. 12 und 13 dargestellt. Bereits in der ersten Versuchswoche war für beide SCP - Gruppen eine um ca. 21% geringere Gewichtsentwicklung gegenüber der Kontrollgruppe erkennbar. Die mit U_{100} bzw $U_{96\ W}$ gefütterten Tiere erreichten zu diesem Zeitpunkt ein Gewicht von 71 g und 73 g (Casein 91 g). Dieser Wachstumsunterschied vergrößerte sich noch im weiteren Versuchsverlauf. Nach der 3.Woche (Versuchsende) lagen beide SCP - Gruppen mit 118 g bzw. 126 g um ca. 28 % unter dem durchschnittlichen End-

gewicht der Caseingruppe mit 170 g. Durch die Methioninergänzung (1 % vom Reinproteinanteil) hatte sich das Gewicht der Ratten bei U_{100} von 118 g auf 144 g und bei $U_{96\ W}$ von 126 g auf 156 g jeweils signifikant (α=0,02) verbessert. Außerdem ergab sich nur bei den methioninergänzten SCP - Gruppen auch in der dritten gegenüber der zweiten Versuchswoche noch eine weitere Steigerung der Gewichtszunahmen von 33 g auf 36 g (U_{100} + Methionin), bzw 36 g auf 40 g ($U_{96\ W}$ + Methionin).

Aus Tab. 12 wird ersichtlich, daß die geringeren Wachstumsleistungen von U_{100} und $U_{96\ W}$ den in beiden Gruppen geringeren Futteraufnahmen entsprachen. Wachstum und Futteraufnahme waren linear positiv korreliert (r = 0,9). Es zeigte sich sogar, daß bei Umrechnung auf gleichen Futterverzehr die methioninergänzten SCP - Produkte dem methioninergänzten Casein teilweise überlegen waren. So benötigten die Ratten von der Caseindiät pro g Zunahme durchschnittlich 2,7 g, von $U_{96\ W}$ + Methionin nur 2,6 g Futter.

Die Ergebnisse der Protein Efficiency Ratio (PER) lagen bei allen SCP - Diäten nach der ersten Woche noch signifikant (α = 0,02) unter denen der Caseingruppe. Bei Versuchsende (21.Tag) waren die Unterschiede zumindest zwischen dem methioninergänzten U_{100}, bzw $U_{96\ W}$ mit 3,7 und 3,8 gegenüber Casein (3,9) nur noch sehr gering.

Tabelle 12 : Versuche mit wachsenden Ratten.Gewichtsentwicklung, Gewichtszunahmen und Futteraufnahmen.Futterverzehr ad libitum.Zahlen in Klammern = Relativwerte zu Casein (100).

Versuchsgruppen	Casein + Methionin+)	U_{100}	$U_{96\ W}$	U_{100} + Methionin+)	$U_{96\ W}$ + Methionin+)
Gewichtsentwicklung (Körpergewicht in g):					
Versuchsbeginn	53	53	53	53	53
7. Tag (relativ)	91 ±6 (100)a++	71 ±5 (78)b	73 ±6 (80)bc	76 ±6 (84)bc	80 ±7 (88)bc
14. Tag (relativ)	131 ±9 (100)a++	96 ±4 (73)b	103 ±6 (79)c	109 ±6 (83)c	116 ±6 (89)cd
21. Tag (relativ)	170 ±10 (100)a++	118 ±9 (69)b	126 ±7 (74)b	144 ±8 (84)c	156 ±8 (92)d
Gewichtszunahme(in g):					
1. Woche (relativ)	38 ±4 (100)a++	18 ±3 (47)b	20 ±4 (53)c	22 ±4 (58)c	26 ±7 (68)c
2. Woche (relativ)	40 ±10 (100)a++	25 ±4 (63)b	30 ±3 (75)c	33 ±4 (83)ac	36 ±5 (90)a
3. Woche (relativ)	39 ±7 (100)a++	22 ±6 (56)b	22 ±3 (56)b	36 ±4 (92)ac	40 ±5 (103)a
1. - 21. Tag (relativ)	116 ±9 (100)a++	65 ±9 (56)b	72 ±6 (62)b	91 ±8 (78)c	103 ±9 (89)d
Futteraufnahme (in g) :					
1. Woche (relativ)	79 ±7 (100)	58 ±6 (73)	57 ±7 (72)	58 ±7 (73)	63 ±7 (80)
2. Woche (relativ)	105 ±11 (100)	77 ±9 (73)	84 ±8 (80)	91 ±5 (87)	91 ±6 (87)
3. Woche (relativ)	117 ±8 (100)	88 ±11 (75)	91 ±9 (78)	106 ±9 (91)	110 ±15 (94)
1. - 21. Tag (relativ)	302 ±21 (100)	223 ±25 (74)	232 ±20 (77)	255 ±15 (84)	264 ±15 (87)

+1 % DL - Methionin,bezogen auf den Reinproteinanteil

++Werte mit unterschiedlichen Buchstaben in einer Zeile unterscheiden sich signifikant(U-Test nach Wilcoxon,Mann und Whitney, für α =0,02).

Tabelle 13: Versuche mit wachsenden Ratten.
Futterverwertung und Protein Efficiency Ratio (PER)

Futterverwertung = g Futter/g Zunahme
PER = g Zunahme pro g Protein[+++]
Zahlen in Klammern = Relativwerte zu Casein (100)

Versuchs-gruppen	Casein + Methionin[+]	U_{100}	$U_{96\ W}$	U_{100} + Methionin[+]	$U_{96\ W}$ + Methionin[+]
Futterverwertung (g Futter/g Zunahme)					
1. Woche (relativ)	2,1 ±0,2 (100) a[++]	3,3 ±0,5 (157) b	2,9 ±0,3 (138)bc	2,7 ±0,3 (128) c	2,5 ±0,8 (124)c
2. Woche (relativ)	2,8 ±0,7 (100) a[++]	3,1 ±0,3 (110) b	2,8 ±0,3 (100) a	2,8 ±0,3 (100) a	2,5 ±0,5 (90) a
3. Woche (relativ)	3,1 ±0,5 (100) a[++]	4,1 ±0,7 (132) b	4,1 ±0,5 (132) b	3,0 ±0,2 (97) ad	2,8 ±0,3 (90) cd
1. - 21.Tag (relativ)	2,7 ±0,1 (100) a[++]	3,5 ±0,2 (130) b	3,3 ±0,1 (122) b	2,8 ±0,2 (103) a	2,6 ±0,1 (96) a
PER[+++]					
1. Woche (relativ)	4,7 ±0,3 (100) a[++]	3,1 ±0,4 (66) b	3,5 ±0,4 (74)bc	4,0 ±0,9 (85) c	4,1 ±0,7 (87) cd
2. Woche (relativ)	3,7 ±0,7 (100) a[++]	3,2 ±0,4 (86) b	3,6 ±0,3 (97)ab	3,7 ±0,4 (100) a	3,7 ±0,4 (100) a
3. Woche (relativ)	3,3 ±0,5 (100) a[++]	2,5 ±0,4 (76) b	2,5 ±0,3 (76)bc	3,4 ±0,2 (103) a	3,6 ±0,3 (109)ac
1. - 21.Tag (relativ)	3,9 ±0,2 (100) a[++]	2,9 ±0,2 (74) b	3,2 ±0,1 (82) b	3,7 ±0,2 (95) a	3,8 ±0,2 (97) a

[+] 1% D-L Methionin bezogen auf den Reinproteinanteil.

[++] Werte mit unterschiedlichen Buchstaben innerhalb der Zeile unterscheiden sich signifikant (U-Test nach Wilcoxon, Mann und Whitney, für $\alpha = 0{,}02$).

[+++] Protein Efficiency Ratio auf der Basis des Reinproteinanteils (Aminosäuren + NH_3-N x 6,25) von 10 % in den Rationen.

Die PER wie auch die Futterverwertung wurden aus den Einzelwerten berechnet und entsprechend auf- bzw. abgerundet. Die hier angegebenen Werte weichen deshalb manchmal von den aus Tab. 12 errechenbaren Zahlen geringfügig ab.

3.3.5. Untersuchungen mit wachsenden Ratten bei begrenzter Fütterung.

Einleitung : Im Gegensatz zu den N-Bilanzversuchen wirkte sich im Wachstumsversuch die verringerte Futteraufnahme bei den SCP - Produkten negativ auf die Versuchsergebnisse aus. Es war nicht erkennbar, ob das geringere Wachstum selbst oder Struktur, Schmackhaftigkeit der SCP-Diäten,bzw andere Gründe Ursache für den schlechteren Verzehr waren. Zur teilweisen Klärung dieser Frage wurde in einem weiteren Wachstumsversuch das Futter so begrenzt, daß alle Gruppen die selbe Futtermenge zugeteilt bekamen ("restricted feeding"). Dabei bestimmten die Ratten der Gruppe mit dem geringsten Futterverzehr die Höhe der Futterzuteilung aller Tiere.

Versuchsanlage : Ratten mit einem durchschnittlichen Anfangsgewicht von 48 ±3 g wurden in 6 gewichtsgleiche Gruppen à 10 Tiere eingeteilt. 5 Gruppen erhielten SCP - Rationen,die sich nur durch steigende Methioninzulagen unterschieden (0,0; 0,3; 0,6; 0,9; 1,2 % vom Reinproteinanteil). Bei der sechsten bestand der Eiweißanteil aus methioninergänztem Casein. Begonnen wurde der Versuch mit einer Futtermenge von 8 g täglich, die jeweils um 1 g erhöht wurde,wenn alle Tiere ihre Rationen gefressen hatten.
Am siebten, 14. und 21. Tag (Versuchsende) nach Beginn des Versuchs wurden die Tiere im Anschluß an dreistündiges Fasten gewogen. Versuchskriterien waren wieder die Gewichtszunahme, die Futterverwertung (g Futteraufnahme/g Zunahme)und die Protein Efficiency Ratio (PER).

Ergebnisse : Wie erwartet, begrenzte die U_{100}-Gruppe den Futterverzehr am stärksten. Nur in dieser und der mit 0,3 % Methionin ergänzten Gruppe wurde vereinzelt Futter zurückgewogen. Eine Ratte mit einer sehr schlechten

Futteraufnahme mußte aus dem Versuch genommen werden, sodaß die U_{100}-Gruppe nur aus 9 Ratten bestand.
Die Ergebnisse in den Tabellen 14 und 15 zeigen deutlich, daß trotz gleicher Futtermengen für alle Tiere das U_{100} + Methionin nicht die Proteinqualität des methioninergänzten Caseins erreichte. Die Unterschiede waren diesmal allerdings wesentlich geringer. Nach der ersten Versuchswoche lagen die mit SCP gefütterten Tiere mit einem Gewicht von 63g- 66g nur ca.6 % unter der Caseingruppe, die durchschnittlich 69 g erreichte. Im vorhergehenden Wachstumsversuch bei freier Futteraufnahme waren es noch 22 % gewesen.
Im weiteren Versuchsverlauf vergrößerte sich der Gewichtsunterschied zur Kontrollgruppe Casein) diesmal ebenfalls nicht so deutlich. Der Einfluß steigender Methioninzugaben auf die Gewichtszunahmen war positiv linear korreliert ($r = 0{,}61$). Die höchsten Zunahmen wurden von der Gruppe erzielt, welche die höchste Methioninzugabe (1,2 % vom Reinprotein) in das Futter bekommen hatte. Die Ratten dieser Gruppe erreichten mit 72 g immerhin 91 % der Gewichtszunahmen der mit dem methioninergänzten Casein gefütterten Tiere.

Tabelle 14 : Gewichtsentwicklung und Gewichtszunahmen (Körpergewicht in g) bei wachsenden Ratten mit begrenzter Fütterung.
Zahlen in Klammern = Relativwerte zu Casein+Methionin.

Versuchsgruppen	Casein+ 0,3 Met+)	U_{100}	U_{100} + 0,3 Met+)	U_{100} + 0,6 Met+)	U_{100} + 0,9 Met+)	U_{100} + 1,2 Met+)
1. Gewichtsentwicklung: (bei gleicher Futtergabe für alle Tiere; Körpergewicht in g)						
Versuchsbeginn:	48 ±2	48 ±3	47 ±1	48 ±1	48 ±2	48 ±2
7. Tag	69 ±3	65 ±3	63 ±3	66 ±4	65 ±3	65 ±4
(relativ)	(100)a++	(94)ab	(91)b	(96)ab	(94)ab	(94)ab
14.Tag	107 ±3	95 ±4	96 ±3	99 ±4	100 ±4	100 ±6
(relativ)	(100)a++	(88) b	(90) b	(92) b	(93) b	(94) b
21. Tag	127 ±4	113 ±3	113 ±4	117 ±4	119 ±3	120 ±5
(relativ)	(100)a++	(89) b	(89) b	(92)bcd	(93)cd	(94)d
2. Gewichtszunahmen:						
1. Woche	21 ±2 a++	17 ±2 b	16 ±2 b	18 ±1 ab	17 ±3 ab	17 ±2 ab
2. Woche	38 ±3 a++	30 ±2 b	33 ±3 bc	33 ±2 bc	35 ±2 ac	35 ±3 ac
3. Woche	20 ±3 a++	18 ±1 ab	17 ±2 b	18 ±2 ab	19 ±2 ab	20 ±2 ab
1. - 21. Tag	79 ±5	65 ±3	66 ±4	69 ±3	71 ±4	72 ±4
(relativ)	(100)a++	(82)b	(84)b	(87)bc	(90)c	(91)c

+ g DL-Methionin pro 100 g Protein (Aminosäuren + NH_3-N x 6,25), hier (10 % Protein in der Ration) = g DL-Methionin/kg Futter.

++ Werte mit unterschiedlichen Buchstaben innerhalb einer Zeile unterscheiden sich signifikant (α = 0,02).

Tabelle 15: Futterverwertung und Protein Efficiency Ratio bei wachsenden Ratten mit begrenzter Fütterung.

Futterverwertung = g Futter/g Zunahme
PER (Protein Efficiency Ratio) = g Zunahme pro g Protein (Aminosäuren + NH_3-N x 6,25).
Zahlen in Klammern = Relativwerte zu Casein.

Versuchs-gruppen	Casein + 1,3 Met+)	U_{100}	U_{100} + 0,3 Met+)	U_{100} + 0,6 Met+)	U_{100} + 0,9 Met+)	U_{100} + 1,2 Met+)
Futterverwertung: (bei gleicher Futtergabe für alle Tiere)						
1. - 21. Tag:	2,9±0,1	3,6±0,2	3,5±0,2	3,3±0,1	3,3±0,2	3,2±0,2
(relativ)	(100)	(124)	(121)	(114)	(114)	(110)
	a++	b	bc	bc	bc	c
PER	3,4±0,2	2,8±0,1	2,9±0,2	3,0±0,1	3,2±0,2	3,1±0,1
(relativ)	(100)	(82)	(85)	(88)	(91)	(91)
	a++	b	b	bc	bc	c

+ g DL-Methionin pro 100 g Protein (Aminosäuren + NH_3- N x 6,25), hier (10 % Protein in der Ration) = g DL-Methionin/kg Futter.

++ Werte mit unterschiedlichen Buchstaben innerhalb der Zeile unterscheiden sich signifikant (α = 0,02).

3.3.6. Untersuchungen zur Aminosäurenanflutung im Pfortaderblut nach der Testmahlzeit

Versuchsanlage : Erwachsene ca. 300 g schwere Albinoratten wurden 14 Tage lang an eine Hochproteindiät (siehe Tab. 5) adaptiert. Die letzten 8 Tage davon dienten als Trainingszeit für die Ratten, damit sie im Versuch die Testmahlzeit spontan und zügig aufnahmen. Zu diesem Zweck wurde die Fütterungszeit auf eine zweimalige pünktliche Futtergabe am Morgen für 30 Minuten (Adaption von 60 auf 30 Minuten) und am Abend für 60 Minuten beschränkt.
Während dieser Trainingszeit zeigte sich bei der SCP-Ration eine verzögerte Futteraufnahme. Auch die Zugabe von 0,1 % Saccharin löste das Verzehrsproblem nicht befriedigend. Daraufhin hielten die Tiere der SCP - Gruppen zur Adaption eine Mischung aus SCP-Protein und Caseinprotein zu gleichen Teilen. Für die Testmahlzeit wurde die SCP-Hochproteinration mit etwas Wasser angeteigt.Das so vorbehandelte Futter nahmen die Ratten ohne Zögern in der gewünschten Menge auf.
Die entsprechende Testration von 3 g (bezogen auf das Trockenfutter mit einem Trockensubstanzgehalt von 91 %) erhielten die Tiere jeweils nach 24 stündigem Fasten. 45 und 90 Minuten danach wurde den Ratten in Äthernarkose ca. 5ml Blut aus der Pfortader entnommen und mit der auf Seite22 beschriebenen Technik für die Aminosäurenanalyse aufgearbeitet. Von sechs Tieren wurden auch die Nüchternwerte festgestellt. Eine Gruppe von Ratten erhielt eine proteinfreie Ration. Um den Zeitraum der Blutentnahme pro Gruppe (pro Ratte ca.2-3 min) möglichst gering zu halten, wurde von den 6 - 7 Tieren pro Rationsgruppe am ersten Tag nur 4 eingesetzt. Die übrigen Ratten kamen am nächsten Tag zum Versuch.

Das bedeutet, daß der Zeitpunkt der Blutentnahme in Wirklichkeit eine Dauer von 8 - 12 Minuten umfaßte. Der Zeitpunkt 45 Minuten nach der Testmahlzeit entsprach somit der Zeit 45 - 57 Minuten. Aus jeder Zeit- und Rationsgruppe liegen daher 6 - 7 Mittelwerte von zwei Versuchen vor.

Ergebnisse: Allgemein zeigte sich bei den SCP - Rationen ein weniger steil verlaufender Konzentrationsanstieg wie auch -abfall bei vielen freien Aminosäuren im Pfortaderblut. Die Konzentration freier Aminosäuren im Pfortaderblut bis zu 90 (90-102) Minuten nach der Fütterung ist in den Abbildungen 2 a,b und c dargestellt. Glutaminsäure, Asparaginsäure und Alanin wurden wegen der erheblichen Transaminierungsvorgänge für diese Aminosäuren schon während der Resorption in der Darmschleimhaut nicht in den Vergleich einbezogen.
Der Verlauf der Resorptionskurven ist teilweise sehr unterschiedlich. Bei der Besprechung wurden daher nur die qualitativen Unterschiede zwischen den einzelnen Aminosäuren beachtet. Die Ergebnisse bestätigen insgesamt die Befunde der vorausgegangenen Versuche. Mit Ausnahme von Glycin und Lysin waren bei U_{100} die Aminosäurenkonzentrationen nach der Testmahlzeit niedriger als bei Casein. Bei Glycin muß berücksichtigt werden, daß der Gehalt im SCP-Reinprotein 6,8 % gegenüber nur 2 % im Casein beträgt. Die Anflutung von Serin, Valin, Leucin, Lysin und Arginin ergab nach 45 (45 - 57) Minuten für die U_{100}-Gruppe signifikant ($\alpha = 0{,}05$) niedrigere Werte im Vergleich zu Casein. Nach 90 (90-102) Minuten waren die Unterschiede nur noch für Methionin und Tyrosin signifikant. Bei Arginin war nach 90 Minuten der signifikante Abfall des Caseinwertes zu U_{100} auffallend. ($\alpha = 0{,}05$). Die Mischung aus U_{100} und Casein lag mit Ausnahme von

Histidin,Lysin und Methionin zwischen den Ergebnissen der beiden Einzelrationen. Lysin, Arginin, Histidin und Tyrosin erreichten in allen Versuchsrationen bereits nach 45 Minuten die höchste Anflutung. Bei Threonin, Phenylalanin,Valin und Leucin waren auch noch Steigerungen zum 90 Minuten-Wert erkennbar.

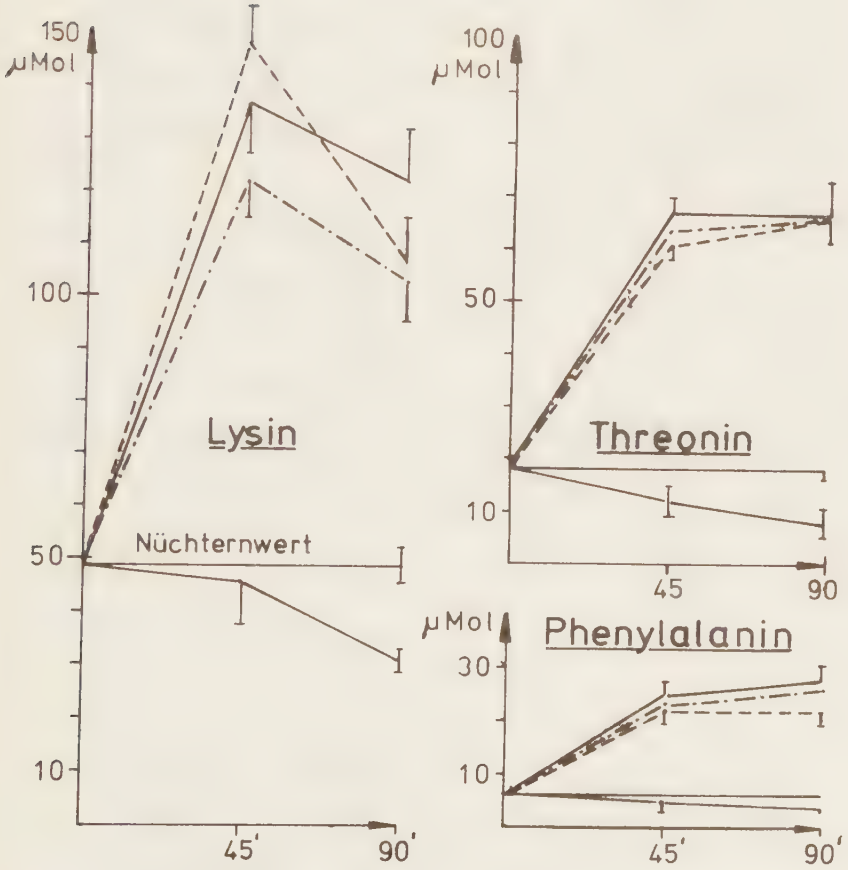
Abbildung 2a : Konzentration an freien Aminosäuren im Pfortaderplasma (µMol/100 ml) nach Fütterung von 3 g einer:

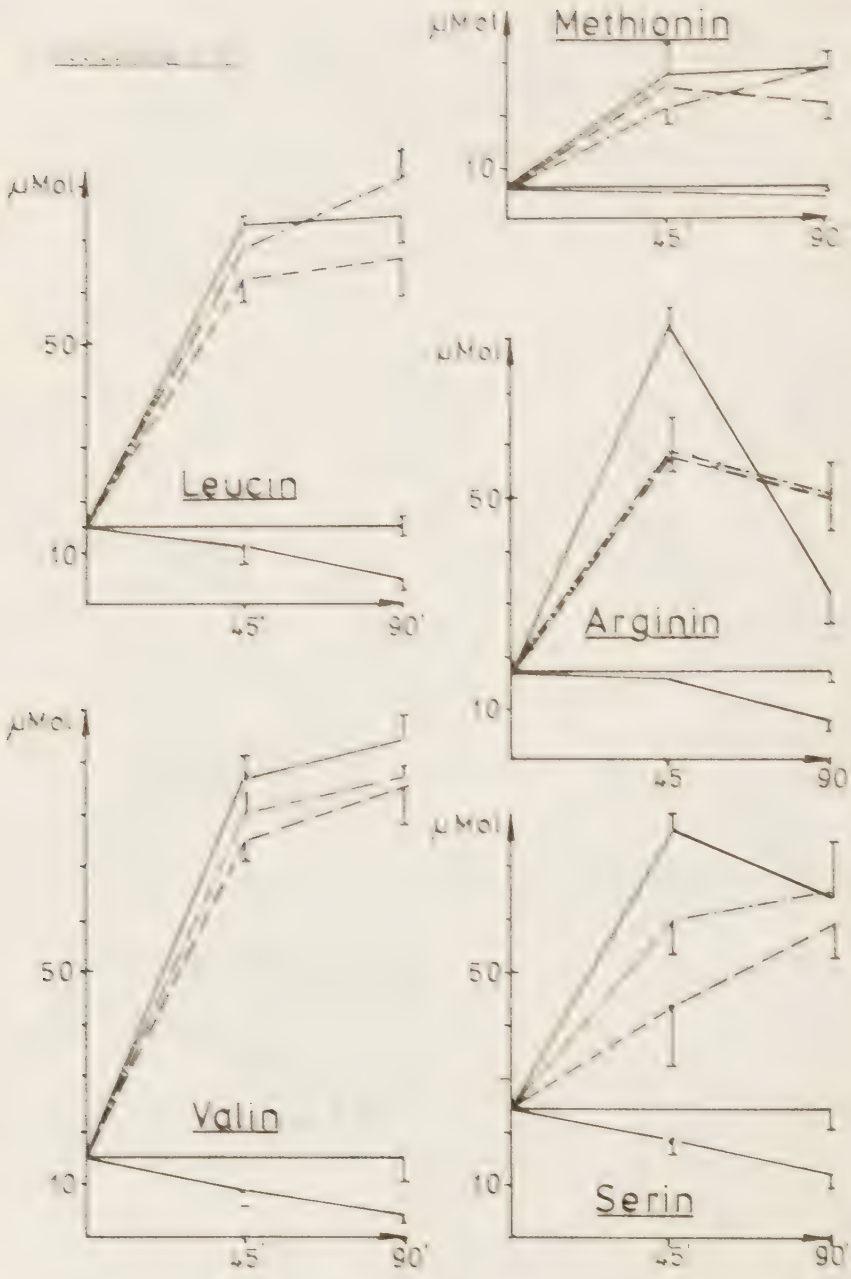
——— Caseindiät

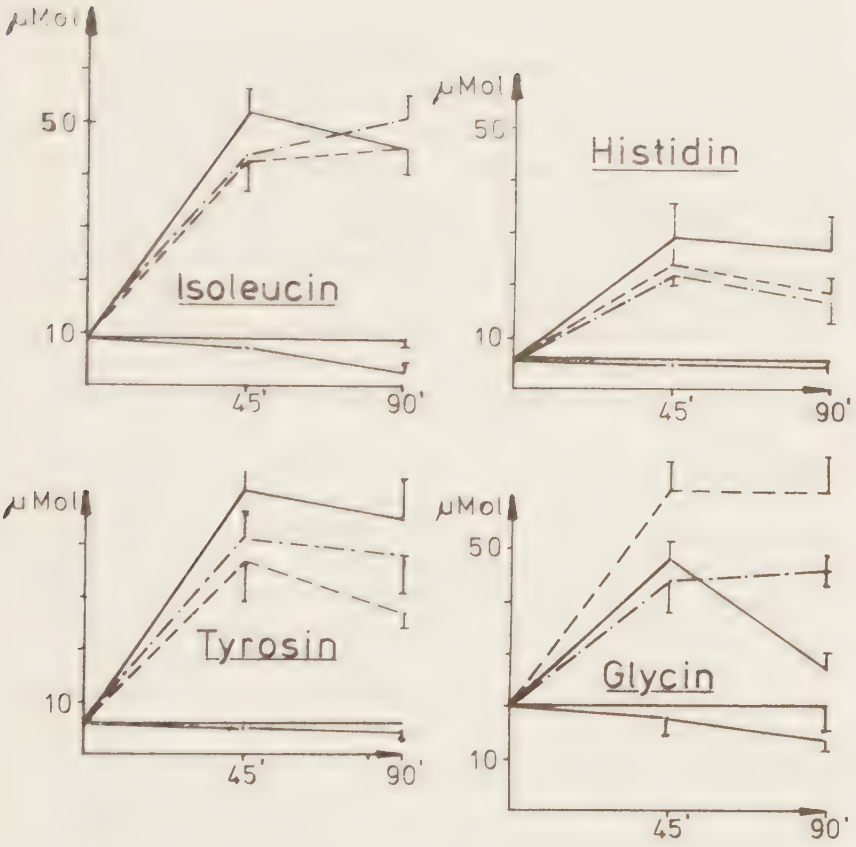
– – – – U_{100} - Diät

—·—·— Casein/U_{100} Gemisch 1:1

Punkte unter dem Nüchternwert = Protein-freie Ration




µMol
Methionin
10
45'
90'
µMol
50
Leucin
10
45'
90'
µMol
50
Arginin
10
45
90
µMol
50
Valin
10
45'
90'
µMol
50
Serin
10
45'
90'


µMol
50
10
Isoleucin
45'
90'
µMol
50
10
Histidin
45'
90'
µMol
10
Tyrosin
45'
90'
µMol
50
10
Glycin
45'
90'

5. Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurde die Proteinqualität von zwei Chargen (U_{100} , $U_{96\ W}$) eines neuen Einzellerproteins auf Methanolbasis beurteilt. Bei den chemischen Analysen war für die Bewertung des Proteins vor allem der Proteingehalt, das Aminosäurenmuster generell und besonders die Konzentration der essentiellen Aminosäuren wichtig. Im Vordergrund standen die tierexperimentellen Untersuchungen an Ratten. Besonderes Augenmerk wurde auf die Kriterien Wachstum, Verdaulichkeit des Rohproteins und der Aminosäuren, Biologische Wertigkeit, Netto Protein Utilisation und die Aminosäurenanflutung im Pfortaderblut gerichtet.

Untersuchungsmethoden

Bei Single-Cell Proteinen entspricht der nach Kjeldahl bestimmte Stickstoffgehalt nach Multiplikation mit 6,25 nicht dem eigentlichen Proteinanteil. Erst nach Abzug des Nukleinsäuren-Stickstoffs vom Gesamt-N erhält man den Stickstoffanteil des Proteingehalts. Eine genauere Möglichkeit,die Menge des "Reinproteins" im SCP zu bestimmen, besteht in der Multiplikation der Summe des N-Anteils der einzelnen Aminosäuren und des NH_3-N mit 6,25. Der Ammoniakstickstoff wird deshalb mitberechnet, da er zum größten Teil durch Umwandlung von Glutamin und Asparagin während der Hydrolyse in Glutamin- und Asparaginsäure freigesetzt wurde. Für U_{100} und $U_{96\ W}$ wurden sowohl die Nukleinsäuren (47) als auch das "Reinprotein" (Aminosäuren + NH_3-N x 6,25) bestimmt. Dabei zeigte es sich, daß 2,8 g Stickstoff aus den Nukleinsäuren und 9,6g - 10,2g Aminosäuren + NH_3- N sich gut zu der Summe des analysierten Gesamtstickstoffs nach Kjeldahl von 12,3g - 13,0 g/100g Trockensubstanz addierten. Außer dem Nukleinsäurenanteil dürften folglich keine größeren Gehalte an Nicht-Protein-Stickstoff (NPN) Verbindungen wie Amine, Amide oder Harnstoff vorkommen. Noch nicht

ganz geklärt ist die Frage, inwieweit die Nukleinsäuren und ihre Bestandteile im Organismus energetisch bzw. zu Synthesezwecken genutzt werden können. Mauron (63) sowie Roth und Kirchgeßner (89) kamen zu dem Ergebnis, daß dazu nur die Pyrimidinbasen, die etwa 50% des Nukleinsäuren-N ausmachen, genutzt werden können.
Um den Einfluß des Nukleinsäuren-N auszuschalten, wurden Aminosäuren-Bilanzen durchgeführt. Gegen diese Methode werden von verschiedenen Seiten Einwände vorgebracht (z.B. 3,52). Sie betreffen besonders mikrobielle Einflüsse im hinteren Darmabschnitt. Wegen der hiermit verbundenen Abbau-, Umbau- und Neusynthese-Vorgänge bei den unverdauten Aminosäuren und der Resorption u.a. von NH_3 entsprechen die im Kot analysierten Werte nicht mehr den ursprünglichen, allein von der Verdauung geprägten Verhältnissen. Dadurch kann eine zu hohe, manchmal auch zu niedrige Verdaulichkeit einzelner Aminosäuren vorgetäuscht werden. In den Untersuchungen der vorliegenden Arbeit standen aus diesen Gründen nicht die Einzelwerte der Aminosäuren, sondern der Mittelwert aller Aminosäuren-Bilanzen im Vordergrund.
Wie bereits auf Seite 15 dargestellt, messen einige Autoren (24,28,32,59,84,92) dem mikrobiellen Einfluß keine große Bedeutung bei. Die Versuchsergebnisse werden aber auch von der Höhe der endogenen Sekretion der jeweiligen Aminosäuren stark beeinflußt, nach Ansicht von Zebrowska et al (121) sogar weitgehend geprägt.

Zur Bestimmung der wahren Verdaulichkeit der Aminosäuren wurde mit einer proteinfrei ernährten Kontrollgruppe der endogenen ausgeschiedene Stickstoff- bzw. Aminosäurenanteil im Kot bestimmt. Diese endogenen Verluste werden vor allem durch das Alter und das Gewicht der Tiere, die Höhe der Futteraufnahme, aber auch durch den Rohfaser- und Proteingehalt der Ration beeinflußt (12,16, 56,57,71,113). An 5, ca. 217 g schweren Ratten wurden in den eigenen Versuchen 187 ± 2 mg N endogener Herkunft

im Kot pro 100g aufgenommener Futtertrockensubstanz gemessen. Dieser Wert ist nur bedingt vergleichbar mit den Ergebnissen aus der Literatur, da die proteinfreie Diät begrenzt gefüttert wurde (10 g TS/Tag). Die von Eggum (32) aus der Literatur zusammengestellten Daten liegen bei einem Mittelwert von 200 mg N/100g aufgenommener Trockensubstanz. Die Ergebnisse von Hiller (51) aus vergleichbaren Versuchen schwanken zwischen 129 mg und 179 mg. Für die Bilanzversuche mit den wachsenden Ratten wurde bei der Ermittlung der endogenen N-Verluste in Kot und Harn statt der proteinfreien Diät eine Ration mit 4% Volleinprotein (siehe S. 17) verwendet. Verglichen mit den bei gleicher Versuchsanordnung ermittelten Daten von Gunsser (46) lagen die eigenen Werte für die endogene N-Ausscheidung im Kot mit 169 $\pm$5 mg N (Versuchsperiode 1), bzw. 182 $\pm$4 mg N (Versuchsperiode 2) pro 100 g aufgenommener Futtertrockensubstanz niedriger. Die tägliche Ausscheidung an endogenem N im Harn war dagegen mit 18$\pm$2 mg N bzw. 14$\pm$1 mg N bezogen auf 100 g Ratte gut vergleichbar.

Neben dem Wachstumsversuch bei ad libitum-Fütterung wurde in einem zusätzlichen Versuch die Futteraufnahme für alle Tiere gleichmäßig begrenzt. Diese Methode erlaubt einen besseren Vergleich der Versuchsergebnisse, da sie bei gleicher Futteraufnahme zustande kamen. Außerdem wird dadurch der Einfluß von Geschmack und Annehmbarkeit der Diät auf den Verzehr ausgeschaltet. Nachteilig ist, daß der höhere Nährstoffbedarf der schneller wachsenden Tiere und aufgrund des schnelleren Wachstums auch der etwas höhere Erhaltungsbedarf nicht berücksichtigt werden. Dadurch wird der eigentliche Wachstumseffekt einer Diät unterdrückt.

Die Untersuchungen zur Aminosäurenanflutung im Pfortaderblut müssen aus mehreren Gründen vorsichtig bewertet

werden. Ein direkter Vergleich kann nur bei Berücksichtigung der teilweise höheren Aminosäurengehalte im Casein erfolgen. Tyrosin, Leucin und Lysin liegen im Casein um 2,8; 1,4 und 1,5 g/100g Protein höher. Der Anteil des SCP an Glycin und Arginin dagegen überragt den im Casein um 4,8 bzw. 1,4 g/100g deutlich. Zwischen den übrigen Aminosäuren bestehen nur geringe Unterschiede. Je nach Art und Qualität des Proteins muß auch die zeitlich unterschiedliche Magenentleerung nach Fütterung der Versuchsdiät berücksichtigt werden. Die Höhe dieses Einflusses kann durch Messung der Trockensubstanzgehalte im Magen ermittelt werden. So betrug der Trockensubstanzgehalt im Magen der Casein gefütterten Tiere nach 45 (90) Minuten noch 1,95 $\pm$ 0,2 (1,37 $\pm$ 0,1) g, bei der U_{100}-Gruppe dagegen nur 1,32 $\pm$ 0,2 (1,1 $\pm$ 0,2) g. Casein erreichte damit erst nach ca. 90 Minuten den 45-Minutenwert von SCP. Sowohl die Differenz im Aminosäurengehalt als auch die unterschiedliche Magenentleerungsrate ließen sich durch rechnerische Maßnahmen berücksichtigen. Es ist aber fraglich, ob es dadurch zu einer entscheidend besseren Aussage gekommen wäre.

Ergebnisse

Der bei Bakterienproteinen allgemein hohe Proteingehalt zeigte sich auch in den beiden untersuchten SCP-Produkten auf Methanolbasis. Bei dem hohen Rohproteingehalt von 81% (U_{100}), bzw. 78% (U_{96W}) muß allerdings berücksichtigt werden, daß ein großer Teil davon aus Nukleinsäuren stammt. Dieser Anteil entspricht etwa 17% "Rohprotein". Nach Abzug des Nukleinsäurengehalts errechnete sich ein Proteingehalt von 61% - 64%, was gut mit dem analysierten "Reinprotein" (Aminosäuren-N + NH_3- N) x 6,25) übereinstimmt.

Die Aminosäurenzusammensetzung der beiden SCP-Produkte ist als günstig zu beurteilen. Bis auf die schwefelhaltigen Aminosäuren Methionin und Cystin sind alle essen-

tiellen Aminosäuren in bedarfsdeckender, zumeist bedarfsüberschreitender Konzentration enthalten. Das für das Geflügel essentielle Arginin ist in U_{100} ($U_{96\ W}$) mit 4,4 (4,1) g/16g N an 2. Stelle limitierend. Der Lysingehalt beträgt 5,7 g/16g N, wovon 4,6 g/16g N (= 81%) für Dinitrofluorbenzol (22) verfügbar sind.
Im Chromatogramm wurde außerdem die bei Bakterien recht häufige α-ε-Diaminopimelinsäure (DAP) in einer Konzentration von ca. 0,5 g/16g N nachgewiesen. DAP kommt bei Bakterien hauptsächlich in den Zellwandproteinen vor. Das außerdem bestimmte Ornithin kommt als Zwischenstufe des N-Stoffwechsels in allen lebenden Zellen vor. Bei zwei weiteren ninhydrinpositiven Substanzen dürfte es sich um Aminozucker (Glucosamin, bzw. Galactosamin) handeln. Eine genauere Zuordnung und mengenmäßige Bestimmung erfolgte bei diesen beiden Substanzen noch nicht.

Wie auch aus früheren Untersuchungen hervorgeht (z.B. 6,45), bedarf es bei SCP-Prudukten immer einer Ergänzung mit Methionin. In U_{100} bzw. $U_{96\ W}$ betrug der Anteil der schwefelhaltigen Aminosäuren 2,6 und 2,7 g/16g N (Casein 3,4 g/16g N). Bezogen auf den Reinproteingehalt erhöhen sich diese Werte auf 3,3 bzw. 3,5 g und sind damit für die meisten landwirtschaftlichen Nutztiere (3,4 - 3,7 g/16g N) knapp bedarfsdeckend. Allein durch die Zugabe von 1% DL-Methionin vom Rohproteingehalt (10%) in der Ration konnte jedoch die biologische Wertigkeit von U_{100} signifikant ($\alpha = 0{,}02$) von 69 auf 85 und die NPU von 63 auf 80 angehoben werden. In den Wachstumsversuchen verbesserte sich die Protein Efficiency Ratio (PER) durch den Zusatz von 1% Methionin zum Reinproteinanteil von 2,9 auf 3,7. Für $U_{96\ W}$ hatten sich ähnliche Steigerungen ergeben. Bei Versuchen mit begrenzter Fütterung waren selbst bei Methioninzulagen von 1,2% noch Mehrzunahmen erkennbar. Das könnte dadurch bedingt sein, daß der Bedarf der wachsenden Ratte an schwefelhaltigen Aminosäuren (4,7 g/16g N) selbst bei

1,2% Zusatz noch nicht gedeckt war. Dieser unverhältnismäßig hohe Bedarf wurde u.a. von Bender (13) ermittelt, aber auch von mehreren Autoren (98,99) für notwendig erachtet. Demnach wäre für die Bedarfsdeckung zum Angebot an Methionin und Cystin aus den SCP-Produkten von 3,3 bzw. 3,5 g/16g AS-N ein Methioninzusatz von 1,2% - 1,4% erforderlich. Schulz (99), der in seinen Versuchen ein Bakterienprotein mit einem hohen Gehalt an Schwefelaminosäuren (3,6 g/16g N) einsetzte, hält einen Zusatz von 2% Methionin für notwendig.

Es könnte jedoch auch möglich sein, daß der Methioninverbrauch durch den Einfluß anderer Inhaltsstoffe wie Fette, Nukleinsäuren, Mineralstoffe oder Zellwandbestandteile erhöht wird. Aus den Bilanzversuchen war kein Hinweis auf eine erheblich reduzierte Verwertung von Methionin und Cystin abzuleiten. Ein Mehrverbrauch an Methionin ist aber zunächst grundsätzlich nicht auszuschließen, zumal beim Casein 1% DL-Methionin als Zusatz ausreichten. Der verhältnismäßig hohe Methioninbedarf der Ratten muß in weiteren Untersuchungen vergleichend bei Casein- und SCP -Rationen ermittelt werden. Insgesamt ist der geringere Methioningehalt im SCP kein gravierender Faktor, da synthetisches DL-Methionin heute preisgünstig herstellbar ist und zur Ergänzung methioninarmer Futtermittel erfolgreich eingesetzt wird. Es dürfte aber auch durch bestimmte Züchtungsverfahren möglich sein, Bakterienmutanten zu erzeugen, die eine methioninreiche Biomasse liefern (48). Es bleibt dann allerdings die Frage, ob dies die ökonomisch sinnvollere Möglichkeit ist oder nicht durch andere Nachteile erkauft werden muß.

Die methioninergänzten Produkte waren, wie die Fütterungsversuche zeigten, in fast allen Kriterien dem Caseinprotein unterlegen. Dabei muß allerdings berücksichtigt

werden, daß methioninergänztes Casein vom Tier optimal verwertet wird. Die Qualitätsunterschiede dürften nicht auf zu geringe Gehalte an weiteren Aminosäuren zurückzuführen sein. Es kommen eher Faktoren in Frage, welche die Verdaulichkeit, den Transport oder die Verwertung der Aminosäuren beeinflussen. Die scheinbare Verdaulichkeit der Summe aller Aminosäuren hatte für U_{100} und $U_{96\ W}$ einen Mittelwert von 82 % (Casein 90 %) ergeben. Für die wahre Verdaulichkeit waren es sogar 86% (Casein 93%) gewesen.

Eine Ursache für die im Verhältnis zum Casein ca. 10% geringere Verdaulichkeit konnte aus den vorliegenden Versuchen nicht gefunden werden. Sie könnte vielleicht in der für mikrobielle Proteine typischen Zellwandstruktur bedingt sein. Diese besteht hauptsächlich aus Mucopeptiden, die nach Untersuchengen von Hoogenraad (53) von den Verdauungsenzymen nicht angegriffen werden. Die α-ε-Diaminopimelinsäure, eine in der Zellwand lokalisierte Aminosäure, wird deshalb wie Mason und White (61) zeigen konnten, im Verdauungstrakt nicht freigesetzt und resorbiert, sondern in den hinteren Darmabschnitten durch die bakterielle Tätigkeit abgebaut. In den eigenen Versuchen waren ca. 70% der DAP im Futter wieder im Kot erschienen. Berücksichtigt man, daß bei Fütterung von DAP-freien Rationen 0,06 mg DAP/100mg Kot ausgeschieden werden, so stammten etwa 60% der Kot-DAP aus dem Futter, d.h. aus dem SCP. Der Rest von ca. 40% wurde demnach bakteriell abgebaut.

Nach Angaben der Hersteller enthält das in der vorliegenden Arbeit untersuchte SCP allerdings nur eine verhältnismäßig dünne und wenig strukturierte Zellwand. Zur Klärung, inwieweit die Zellwandstruktur tatsächlich für die geringere Proteinqualität von U_{100} bzw. $U_{96\ W}$ verantwortlich ist, sind weitere Untersuchungen erforderlich. Die Verdaulich-

keit und die Proteinqualität müßten dann auch an einigen SCP-Präparationen, wie etwa der entfetteten Substanz, dem Proteinisolat oder der angereicherten Zellwandfraktion durchgeführt werden.

Über die Zellwandpeptide können darüber hinaus außerdem D-Aminosäuren im SCP enthalten sein. Aus den Aminosäurenanalysen geht nicht hervor, ob und welche Aminosäuren im SCP in der D-Form vorliegen. Für die Proteinsynthese werden nur L-Aminosäuren verwendet. Bei einigen Aminosäuren ist ein Umbau von der D- zur L-Form (z.B. bei Methionin) möglich. Einigen D-Aminosäuren werden jedoch sogar toxische Wirkungen zugeschrieben (1,60). Bei Untersuchung der isolierten Zellwandfraktion sollte daher der Anteil der Zellwand an D-Aminosäuren als mögliche Ursache der geringeren Proteinqualität besondere Beachtung geschenkt werden.

Die um 10% geringere Verdaulichkeit wirkte sich auch auf die übrigen Versuchsergebnisse aus. Sie liegen mit Ausnahme der höheren von Schulz (99) angegebenen Werte (siehe S. 9) im Rahmen vergleichbarer SCP-Produkte auf Methanolbasis. Ågren et al (2) erreichten an Ratten, die sie vier Wochen mit einem bakteriellen Protein fütterten, eine PER von 1,76. Im eigenen Wachstumsversuch bei ad libitum Fütterung lagen die Ergebnisse bezogen auf den Rohproteingehalt von 12,5% SCP in der Ration für U_{100} mit 2,3 und für $U_{96\ W}$ mit 2,5 höher, während für Casein + Methionin der Wert mit 3,4 um 0,5 niedriger war.
In der dritten Versuchswoche waren, bezogen auf gleichen Futterverzehr die methioninergänzten SCP-Produkte dem methioninergänzten Casein in der Gewichtszunahme, Futterverwertung und PER sogar etwas überlegen. Dies mag in der insgesamt günstigeren Aminosäurenzusammensetzung begründet sein oder aber durch eine Sonderwirkung des beim proteinäquivalenten Vergleich der Rationen nicht

berücksichtigten Nukleinsäurenanteils zustande gekommen sein.

Bei begrenzter Fütterung erreichte das mit 0,9 bzw. 1,2% Methionin ergänzte U_{100} ca. 90% der Wachstumsleistung von Casein + Methionin. Die Unterschiede zwischen dem SCP und dem Casein waren allerdings wesentlich geringer als im ersten Wachstumsversuch. Bei ad libitum Fütterung hatte das mit 1% Methionin ergänzte U_{100} im gesamten Versuchsverlauf nur 78% des Wachstums von Casein + Methionin erreicht.

In allen Versuchen war festzustellen, daß bei den SCP-Rationen die Futteraufnahme deutlich eingeschränkt war. Dieser Einfluß verfälschte besonders bei ad libitum Fütterung die in den Bilanzversuchen als recht gut erkannte Proteinqualität von U_{100} bzw. $U_{96\ W}$. Über die genaue Ursache dieser Verzehrsdepression ist bisher wenig bekannt. Möglicherweise bereitet die feine staubige Konsistenz den Ratten Schwierigkeiten bei der Futteraufnahme. Ähnliche Probleme ergaben sich auch in früheren Untersuchungen mit SCP-Rationen am Geflügel (39). Zur genaueren Klärung dieser Frage sind gezielte Versuche mit granulierten SCP-Produkten vorgesehen. Die verringerte Futteraufnahme könnte außerdem durch die geringere Schmackhaftigkeit von U_{100} und $U_{96\ W}$ verursacht sein. Dabei ist allerdings zu bedenken, daß biologisch vollwertige Rationen mit geringerer Schmackhaftigkeit bei der Ratte im allgemeinen keine langfristige Verzehrsdepression zur Folge haben (103). In vielen Fällen führt eher die Verabreichung von Mangeldiäten zu einer Verzehrsdepression. So bewirkte z.B. die Verfütterung der Volleiproteindiät mit nur 4% Protein eine weitere Reduzierung des Verzehrs gegenüber U_{100} um ca. 25%. Eine Minderaufnahme tritt auch ein, wenn eine Aminosäurenmangel- bzw. Aminosäurenimbalanzdiät angeboten wird, oder bei bestimmten Vitaminmangelzuständen

(z.B. Thiaminmangel) (96). Man nimmt heute an, daß der unter den genannten Bedingungen auftretende Appetitrückgang Ausdruck einer sog. erlernten Aversion ist (90). Das Ziel der weiteren Untersuchungen wäre es, zu klären, ob der bei der Fütterung SCP-haltiger Rationen auftretenden Verzehrsdepression eine erlernte Aversion zugrunde liegt.

Schlußfolgerungen

Bei zusammenfassender Betrachtung der Versuchsergebnisse ergaben sich drei besonders bemerkenswerte Befunde: Ein Defizit an schwefelhaltigen Aminosäuren (Methionin und Cystin), eine auch bei optimaler Methioninergänzung noch um ca. 10% geringere Proteinqualität gegenüber Casein und eine abträgliche Wirkung auf den Verzehr. Aus Untersuchungen von Beck et al (11) an Hühnerküken und Wachteln ergab sich, daß bei Verwendung von SCP als alleiniger Proteinquelle mit steigendem SCP-Anteil auch eine Leistungsdepression zunahm. Diese Befunde werden im Sinne einer Unverträglichkeit, nicht aber durch einen toxischen Faktor verursacht, interpretiert.

Durch die Inbetriebnahme einer Pilotanlage mit einer Kapazität zur Herstellung von 1000 t des von uns untersuchten SCP pro Jahr sind weiterführende Untersuchungen auch an landwirtschaftlichen Nutztieren möglich. Für Europa wird ein Einsatz des SCP in der Tierernährung angestrebt. Für diesen praktischen Einsatz muß die gute Proteinqualität des SCP in Zusammenhang gesehen werden mit der Verzehrsfähigkeit, Verträglichkeit und einer Preiswürdigkeit, die mit anderen herkömmlichen Eiweißträgern vergleichbar ist. Nach Niess (125) ist eine Konkurrenz zum Fischmehl in absehbarer Zeit durchaus möglich, wogegen der Sojapreis sich etwa verdoppeln müßte, ehe Einzellerproteine als konkurrenzfähig angesehen werden können.

SCP kann aber als Vitaminträger und zur Abrundung lysinarmer Diäten eine sehr gute Ergänzungswirkung erfüllen. Gereinigte Fraktionen bzw. Proteinisolate des SCP werden auch in der Ernährung des Menschen einsetzbar sein. Eine Prüfung erster gereinigter Präparationen von SCP-Produkten, in ähnlicher Weise wie die Untersuchungen der Einzellerbiomasse in der vorliegenden Arbeit, ist vorgesehen.

5. Zusammenfassung

Am Prototyp eines neuen bakteriellen Single-Cell Proteins, produziert auf Methanolbasis im Rahmen des Forschungsprojekts BCT 75 durch die Firmengruppe HOECHST/UHDE, wurden analytische und tierexperimentelle Untersuchungen durchgeführt.

Die analytischen Untersuchungen wiesen die beiden untersuchten Chargen U_{100} und $U_{96\ W}$ mit einem Rohproteingehalt von 81 % bzw. 78 % als eiweißreiche Produkte aus. Das gilt auch, wenn man berücksichtigt, daß ca. 20 % des Gesamtstickstoffs in Form von Nukleinsäuren-N vorlagen. Die Aminosäurenzusammensetzung war als günstig zu beurteilen. Mit Ausnahme der schwefelhaltigen Aminosäuren Methionin und Cystin, die in U_{100} und $U_{96\ W}$ zusammen 2,6 g bzw. 2,7 g/16g N erreichen, sind alle essentiellen Aminosäuren für die überwiegende Mehrzahl der landwirtschaftlichen Nutztiere in bedarfsdeckender Konzentration enthalten. Für das Geflügel erwies sich Arginin mit 4,4 g/16g N als an zweiter Stelle limitierend.

Alle Fütterungsversuche wurden am Modelltier Ratte (Stamm Sprague Dawley) durchgeführt. Bei entsprechender Methioninergänzung ist das SCP von hoher Proteinqualität, vergleichbar mit anderen hochwertigen pflanzlichen Proteinen. Die Proteinverdaulichkeit und Aminosäurenverwertung liegt etwa 5 - 10 % unter der von methioninergänztem Casein bester Qualität. In N-Bilanzversuchen wurden mit dem methioninergänztem SCP Werte von 93; 85 und 80 für die wahre Verdaulichkeit, die Biologische Wertigkeit und die Netto Protein Utilisation ermittelt. Dies ist im Vergleich zu den am methioninergänztem Casein erhaltenen Zahlen von 99; 88 und 88 günstig zu beurteilen.
Im Wachstumsversuch an jungen Ratten bei ad libitum Fütterung war das SCP auch nach Methioninergänzung dem

Vergleichsprotein Casein + Methionin deutlich unterlegen. Bei begrenzter, für alle Tiere gleicher Fütterung verringerte sich die Differenz zwischen SCP + Methionin und Casein + Methionin auf ca. 10 %, was sich durch die ebenfalls um 10 % geringere NPU erklären läßt. Die bei ad libitum Fütterung höher als 10 % liegenden Unterschiede dürften somit vor allem auf verzehrsbedingte Ursachen zurückzuführen sein. Im abschließenden Versuch zur Aminosäurenanflutung im Pfortaderblut nach Fütterung einer Testmahlzeit wurden die Befunde der vorausgegangenen Untersuchungen bestätigt, wonach das SCP-Protein dem Casein-Protein etwas unterlegen ist.

Aus den analytischen und tierexperimentellen Untersuchungen ergibt sich, daß die geringere Qualität der untersuchten SCP-Produkte hauptsächlich durch den Methioninmangel, durch die geringere Proteinverdaulichkeit und durch ein dem Verzehr abträgliches Prinzip bedingt ist.

Summary

Protein Quality Measurements on a Bacterial Single Cell Product Grown on Methanol.

Analytical and physiological investigations of a new bacterial single-cell protein (SCP) (methylomonas),produced from methanol are reported. The single-cell biomass was developed by the Hoechst/Uhde group under research project BCT 75.
The biochemical analyses demonstrated the two SCP's investigated, U_{100} and $U_{96\ W}$, to be protein rich products, containing 81 % and 78 % crude protein, respectively. However about 20 % of the total nitrogen content comes from nucleic acid N. The amino acid composition of the proteins was nutritionally favorable. With the exception of the sulphur containing amino acids, methionine and cystine, found present in amounts of 2,6 and 2,7 g/16g N in U_{100} and $U_{96\ W}$, respectively, all essential amino acids were present in amounts more than adequate to meet the requirements of the vast majority of agricultural animals. For poultry, arginine,4,4 g/16g N, was the second most limiting acid.

Feeding experiments were conducted with Sprague-Dawley albino rats. The quality of methionine-enriched SCP was high, comparable to a high quality vegetable protein. Protein digestibility and amino acid utilization, however, were 5 - 10 % lower than that found for optimal quality, methionine-enriched casein. In N-balance experiments, this SCP was found to have a true digestibility of 93, a biological value of 85 and a net protein utilization of 80, values which compare favorably with those found for the methionine-enriched casein: 99, 88 and 88, respectively. Growth of young rats fed SCP or

methionine-enriched SCP ad libitum was,however, considerably reduced in comparison to methionine-enriched casein fed rats. In experiments with restricted feeding the differences between the methionine supplemented SCP and casein + methionine were only 10 % and can thus be compared with the results achieved by the balance trials. The greater growth difference found in the ad libitum feeding experiment is therefore probably mainly the result of differential intakes of the two nutrients. Portal vein amino acid concentrations following a test meal,were evaluated in a final experiment. The data confirmed the previous investigations in that amino acid levels after an SCP meal were somewhat lower than those after a casein meal.

The results of these experiments indicate that the SCP products U_{100} and $U_{96\ W}$ are of inferior quality on the bases of methionine deficiency, of poor protein digestibility and of a depressive effect on the level of voluntary food intake.

6. Literaturverzeichnis

1. Adkins, J.S., M.L. Sunde, A.E. Harper
The development of a free amino acid diet for the growing chick.
Poultry Sci. 41, 1382, (1962)

2. Ågren, G., U. Stenram, H.Nordgren, A.Eklund, J.E. Glas
Some biological effects observed in rats fed on single cell proteins of yeast and bacterial origin.
Nutr. Metabol. 17, 20, (1974)

3. Bailey, H.S., C.Y. Cho, J.H.G. Holmes
Examination of amino acids in ileal digesta as a measure of protein digestion.
Fed. Proc. 33, 94, (1974)

4. Barnes, R.H., E. Kwong
Methionine absorption and utilization from soybean protein and the effect of soybean trypsin inhibitor - a study of amino acid availability.
In: H.N. Munro, The role of the gastro-intestinal tract in protein metabolism.
Blackwell, Oxford (1964)

5. Beck, H., H. Erbersdobler, J. Gropp
Erdölhefen als Referenzprotein (Kurzreferat)
Zeitschr. Tierphysiol.,Tierern.,Futter-mittelkde. 32, 6, (1973)

6. Beck, H. Studien über den Einsatz von Alkan-Hefen in der Geflügelernährung.
Med. vet. Diss. München (1974)

7. Beck, H., J. Gropp
Alkanhefen in der Geflügelernährung.
1. Mitteilung. Chemische Zusammensetzung und Futterwert.
Zeitschr. Tierphysiol.,Tierern.,Futter-mittelkde. 33, 158, (1974)

8. Beck, H., J. Gropp
Alkanhefen in der Geflügelernährung.
2. Mitteilung. Bisherige Erfahrungen mit Alkanhefen in der Tierernährung.
Zeitschr. Tierphysiol.,Tierern.,Futter-mittelkde. 33, 305, (1974)

9. Beck, H., J. Gropp
Bakterienprotein im Milchaustauschfutter für Mastkälber (Kurzreferat). S. 171. Vortrag 29. Tagung in Göttingen,2.- 4. April 1975.
Zeitschr. Tierphysiol. Tierern.,Futtermittelkde. 35, 165, (1975)

10. Beck, H., J. Gropp, H. Erbersdobler
Erdgasproteine (Bakterien) in der Geflügelmast.
Landwirtsch. Forschung 31/II, Sonderheft 66, (1975)

11. Beck, H., K. König, J. Gropp
Schnellprüfung des Futterwertes von Single Cell protein mit Wachtel- und Hühnerküken.
Fette, Seifen, Anstr. 80 (Sonderh.), 601,(1978)

12. Behm, G.
Über den Einfluß der Futtermenge auf die Menge des Darmverlust-Stickstoffs.
Arch. Tierern. 5, 52, (1955)

13. Bender, A. E.
The balancing of amino acid mixtures and protein.
Proc. Nutr. Soc. 24, 190, (1965)

14. Bergstrom, G.
Der hungrige Planet. Welternährung von der Krise zur Katastrophe ?
BLV - München- Basel - Wien (1967)

15. Bernhart, F.W.
Comparison of the essential amino acid nitrogen and calorie requirements of the weanling rat and breast-fed infant.
J. Nutr. 100, 461, (1970)

16. Bock, H.-D., F. Horszcaruk, L. Angelowa
Untersuchungen über den Stickstoffumsatz im tierischen Organismus.
4. Mitteilung: Der Stickstoffumsatz wachsender Albinoratten bei proteinfreier Ernährung.
Arch. Tierern. 14, 157, (1964)

17. Bock, H.-D., E.J. Wünsche
Untersuchungen über die Proteinqualität von 2 Grünalgenmehlen.
Jb. Tierern. Fütterung 6, 544, (1967/68)
Sitz.ber. Dtsch.Akad. Landw. Wiss. 16, H. 9, 113.

18. Bock, H.-D., J. Wünsche, U. Herrmann, B. Hoffmann
Neuere Untersuchungen über den nutritiven Proteinwert von biosynthetisch hergestellten Futtermitteln unterschiedlicher Ausgangsmaterialien.
Arch. Tierern. 18, 417, (1968)

19. Braude, R. K.G. Mitchell, D.N. Rhodes
A new source of protein for growing pigs.
Proc. Nutr. Soc. 34, 51 A, (1974)

20. Braude, R. New sources of protein for pigs.
Proc. Nutr. Soc. 35, 93, (1976)

21. Brüggemann, J., H. Erbersdobler, J. Gropp
Use of new or unconventional protein sources in poultry nutrition.
In: New trends in animal nutrition XVI, 222, (1974)
Herausg. : S.Dilmen, Ankara Universitesi, Veteriner Fakültesi, Ankara.

22. Carpenter, K.J., G.M. Ellinger
The estimation of the available lysin in animal protein foods.
Biochem. J. 77, 604, (1960)

23. Champagnat, A., D.A.B. Llewelyn
Protein from petroleum.
New Scientist 317, 612, (1962)

24. Columbus, A., J. Wagner, J. Rojahn
Der bakterielle Stickstoffanteil des Darmverlust-Stickstoffs.
Arch. Tierern. 8, 249, (1958)

25. Cooney, C.L., D.W. Levine, B. Snedecor
Production of single-cell protein from methanol.
Food Technology, p.33, march 1975

26. Cremer, H.-D.
Neuartige Lebensmittel.
Ernährungs-Umschau 25, 38, (1978)

27. Dammers, J. Veteringsstudies bij het varken. Faktoren van invloed op de vertering der voedercomponenten en de verteerbaarheid der aminozuren.
Agr. Diss. Leuven (1964)

28. Dammers, J. Das Verhalten der Aminosäuren während der Eiweißverdauung beim Schwein.
Vortrag 18. Tagung in Gießen am 26.,27. und 28. April 1965.
Zeitschr. Tierphysiol.,Tierern.,Futtermittelkde. 22, 64, (1966/67)

29. D'Mello, J.P.F., D.G. Peers, C.T. Whittemore
Utilization of dried microbial cells grown on methanol in a semi-purified diet for growing pigs.
Br. J. Nutr. 36, 403, (1976)

30. De Mueleneare, H., R. Feldman
Availability of amino acids in maize.
J. Nutr. 72, 447, (1960)

31. De Pontanel, G. (editor)
Proteins from hydrocarbons.
Symposium Aix en Provence, Academic Press, London - New York (1972)

32. Eggum, B.O. A study of certain factors influencing protein utilization in rats and pigs.
Thesis, København (1973)

33. Enebo, L. Single-cell protein. p. 93.
In: Evaluation of novel protein products.
Edited by A.E. Bender, R.Kihlberg, B. Lövovist, B.L. Munck.
Oxford Pergamon Press (1970)

34. Erbersdobler, H.
Untersuchungen zur analytischen und physiologischen Charakterisierung der Aminosäurenschädigung bei Hitzebehandlung von Nahrungs- und Futtermitteln.
Habilitationsschrift, München,(1967)

35. Erbersdobler, H.,H. Dümmer, H. Zucker
Untersuchungen zur analytischen und physiologischen Charakterisierung der Aminosäurenschädigung bei Hitzebehandlung von Futtermitteln. 2. Mitteilung. Der Einfluß der Aminosäurenverfügbarkeit auf die Anflutung freier Aminosäuren im Pfortaderplasma.
Zeitschr. Tierphysiol.,Tierern.,Futtermittelkde. 24, 136, (1968)

36. Erbersdobler, H., G. Riedel
Bestimmung der Aminosäurenverdaulichkeit bei keimfrei und konventionell gehaltenen Küken.
Arch. Geflügelkde. 36, 218, (1972)

37. Erbersdobler, H.
Views on poultry requirements for amino acids and new sources of these nutritients suitable for use in the feeding poultry.
Symposium on new developments in the provision of amino acids in the diets of pigs and poultry.
United Nations Publication No.E/R/R.73 II.
E/Mim.8,Volume I.,p.114-141,New York (1973)

38. Erbersdobler, H.
Über die gegenwärtige und zukünftige Situation der Eiweißversorgung unserer landwirtschaftlichen Nutztiere.
Kraftfutter 56, 274, (1973)

39. Erbersdobler, H., J. Gropp, H. Beck
Utilization of proteins for growth and egg production.
Proc. Nutr. Soc. 34, 21, (1975)

40. Faust, U., P. Präve, D.A. Sukatsch
Continous biomass production from methanol by methylomonas clara.
J. Fermentation Technology 55, No. 6, 609,(1977)

41. Frahm, H., A. Lembke
Ernährungsphysiologische und toxikologische Probleme bei der Verfütterung mikrobieller Proteine an Mensch und Tier. S.179.
In: 1. Symposium Mikrobielle Proteingewinnung, Braunschweig-Stöckheim, (1975)

42. Ganapathy, S.N., E.S. Nasset
Free amino acids in dog blood and gut content after feeding meat.
J. Nutr. 78, 241, (1962)

43. Gesellschaft für Ernährungsphysiologie der Haustiere, Arbeitskreis für Proteinbewertung. Vorschrift zur Proteinbewertung mit wachsenden Ratten.
Zeitschr. Tierphysiol.,Tierern.,Futtermittelkde. 19, 305, (1964)

44. Gropp, J., V. Schulz, H. Beck
Über den Futterwert von Erdölhefen in der Geflügelernährung (Kurzreferat).
Zeitschr. Tierphysiol.,Tierern.,Futtermittelkde. 30, 155, (1972)

46. Gropp, J., H. Beck, H. Erbersdobler
Alkanhefen in der Geflügelernährung. 5. Mitteilung. Untersuchungen zur optimalen Methioninergänzung von Alkan-Hefeprotein bei Hühner- und Wachtelküken. Zeitschr. Tierphysiol.,Tierern.,Futtermittelkde. 34, 181, (1974/75)

47. Gunsser, I. Untersuchungen über den Einfluß einer Erhitzung von Proteinen auf die Aminosäurenverdaulichkeit und die biologische Wertigkeit. Med. vet. Diss. München (1972)

48. Günzel, R., S. Gaebler
Nucleinsäuren im Single Cell Protein. Fette, Seifen, Anstr. 80 (Sonderh.),606,(1978)

49. Halász, A., A. Baráth, J. Pfeiffer Szalma
Versuch zur Herstellung von methioninreichen Hefemutanten. Vortrag, Vth. international symposium on amino acids, 21. - 26. Febr. 1977, Budapest.

50. Harrar, J.G.
Nutrition and numbers in the third world. Nutr. Rev. 32, 97, (1974)

51. Hegsted, D.M.
The amino acid requirements of rats and human beings. p. 275. In:"Proteins in human nutrition".(J.W.G. Porter and B.A. Rolls, eds.) Academic Press, Lonon - New York (1973)

52. Hiller, H.H.
Verdaulichkeit und umsetzbare Energie von Sojaprotein bei adulten Ratten. Zeitschr. Tierphysiol.,Tierern.,Futtermittelkde. 33, 42, (1974)

53. Holmes, J.H.G., H.S. Bailey, P.A. Leadbeater, F.D.Horney
Br. J. Nutr. 32, 479, (1974)

54. Hoogenraad, N.J., F.J.R. Hird, R.G. hite, R.A. Lang
Utilization of ^{14}C-labelled bacillus subtilis and escherichia coli by sheep. Br. J. Nutr. 24, 129, (1970)

55. Kihlberg, R.
The microbe as a source of food. Ann. Rev. Microbial 26, 427, (1972)

55. Kjeldahl, J.
Neue Methode zur Bestimmung des Stickstoffs in organischen Körpern.
Zeitschr. anal. Chem. 22, 366, (1883)

56. Krawielitzki, K., S. Smulikowska
Versuche zur Bestimmung des endogenen und exogenen fäkalen N-Anteils monogastrischer Tierarten.
Arch. Tierern. 27, 39, (1977)

57. Krawielitzki, K., E. Timm
Tracerversuche an Ratten mit ^{15}N markiertem Weizen zur Bestimmung des endogenen und exogenen fäkalen N-Anteils.
Arch. Tierern. 28, 155, (1978)

58. Kuiken, A., C. M. Lyman
Availability of amino acids in some foods.
J. Nutr. 36, 359, (1948)

59. Kuiken, K.A.
Availability of the essential amino acids cottonseed meal.
J. Nutr. 46, 13, (1952)

60. Maruyama, K., M.L. Sunde, A. E. Harper
Effect of D-alanin and D-aspartic acid on the chick.
J. Nutr. 102, 1441, (1972)

61. Mason, V.C., F. White
The digestion of bacterial mucopeptide constituents in the sheep. 1. The metabolism of 2,6-diaminopimelic acid.
J. agric. Sci., Camb. 77, 91, (1971)

62. Mateless, R.J., S.R. Tannenbaum (editors)
"Single Cell Protein".
MIT Press, Cambridge and London (1968)

63. Mauron, J. The analysis of food proteins, amino acid composition and nutritive value. p. 139.
In:"Proteins in human nutrition". (J.W.G. Porter and B.A.Rolls, des.)
Academic Press, London-New York (1973)

64. Mauron, J. Einzeller-Proteine, eine mögliche neue Eiweißquelle ?
Lebensmitt. Ernähr. 27, 45, (1974)

65. Meier, H., S. Poppe, H. Uhlemann
Untersuchungen über die Aminosäuren-resorption aus verschiedenen Protein-trägern bei Ratten. 1. Mitteilung.
Arch. Tierern. 20, 667, (1970)

66. Mitchell, H.H.
A method of determing the biological value of proteins.
J. Biol. Chem. 58, 873, (1923/24)

67. Münchow, H., H. Bergner
Vergleich der Proteinbewertung bei Ratte und Schwein.
Arch. Tierern. 18, 484, (1968)

68. Nasset, E.S., R. Schwartz, H.V. Weiss
The digestion of proteins in vivo.
J. Nutr. 56, 83, (1955)

69. Nehring, K. Untersuchungen über die biologische Wertigkeit von Eiweißfutterstoffen. 1. Mitteilung. Die Bestimmung der biologischen Wertigkeit und der Ergänzungswirkung von Eiweißfutterstoffen durch Versuche an wachsenden Ratten.
Arch. Tierern., Beih. 5, 110, (1954)

70. Neumann, H.H.
Petrochemische Rohstoffe für die mikrobielle Proteingewinnung: Herstellung, Verfügbarkeit und wirtschaftliche Aspekte.S.1.
In: 1. Symposium Mikrobielle Proteingewinnung, Braunschweig-Stöckheim (1975)

71. Njaa, L.R. A study on the Mitchell method for determination of the biological value of protein.
A.S. John Griegs Boktrykkeri, Bergen (1963)

72. Olmsted, W.W., E.S. Nasset, M.L. Kelley jr.
Amino acids in postprandial gut contents of man.
J. Nutr. 90, 291, (1966)

73. Osborne, T.B., L.B. Mendel, E.L. Ferry
A method of expressing numerically the growth promoting value of proteins.
J. Biol. Chem. 37, (1919)

74. Pabst, W. Die Proteinqualität einiger Mikroalgen, ermittelt im Rattenbilanzversuch. 1. Scenedesmus, Coelastrum und Uronema.
Z. Ern. wiss. 13, 73, (1974)

75. Pabst. W. Ernährungsversuche zur Bestimmung der Proteinqualität von Mikroalgen. S. 173. In: 1. Symposium mikrobielle Proteingewinnung, Braunschweig-Stöckheim (1974)

76. Palmer, R., R.H. Smith
The nutritional evaluation of single-cell proteins.
Proc. Nutr. Soc. 30, 60 A, (1971)

77. Payer, H.D., K.H. Runkel, H. Kunte, H. Gräf, E.Stengel, H. Mohn, A. Polsiri
Die Kontamination von Mikroalgen mit einigen umweltbürtigen Schadstoffen. S.191. In: 1. Symposium mikrobielle Proteingewinnung, Braunschweig-Stöckheim (1975)

78. Pion, R. The relationships between the levels of free amino acids in blood and muscle and the nutritive value of proteins. p. 329. In:"Proteins in human nutrition" (J.W.G. Porter and B.A. Rolls, eds.) Academic Press, London - New York (1973)

79. Poppe, S., H. Kristen, H. Meier, H. Uhlemann, W.Wiesmüller
Untersuchungen über die Aminosäurenresorption aus verschiedenen Proteinträgern. III. Zur Absorption von 8 essentiellen Aminosäuren aus verschiedenen Futtermitteln bei Küken.
Wiss. Z. Uni. Rostock, 18, M1/2, 77, (1969)

80. Poppe, S., H.Meier, W. Wiesmüller
Untersuchungen über die Aminosäurenresorption aus verschiedenen Proteinträgern beim Schwein. 3. Mitteilung. Bestimmung der Darmverlustaminosäuren.
Arch. Tierern. 20, 575, (1970)

81. Poppe, S., H. Meier
Untersuchungen über die Aminosäurenresorption aus verschiedenen Proteinträgern beim Geflügel. 1.u.2. Mitteilung.
Arch. Tierern. 21, 447, (1971)
Arch. Tierern. 21, 515, (1971)

82. Poppe, S., H. Meier
Vergleichende Betrachtung der Aminosäurenresorption bei verschiedenen Tierarten.
Arch. Tierern. 21, 531, (1971)

83. Poppe, S., H. Meier, H. Uhlemann
Untersuchungen über die Aminosäurenresorption aus verschiedenen Proteinträgern bei Ratten.
II. Bestimmung der Darmverlustaminosäuren.
Arch. Tierern. 21, 161, (1971)

84. Poppe, S., H. Meier, H.J. Bennke
Zu einigen methodischen Problemen der Bestimmung der wahren Verdaulichkeit von Aminosäuren beim Schwein.
Vortrag, Vth International Symposium on amino acids, Budapest, 21.-26. 2. 1977

85. Präve, P., W. Sambeth, D.A. Sukatsch
Mikrobielle Eiweißgewinnung aus Kohlenwasserstoffen.
Chemie in unserer Zeit 9,(Nr.2),59, (1975)

86. Präve, P. Die Nutzung mikrobiellen Lebensraumes - moderne Entwicklungen biologischer Technologien.
Naturw. Rdsch. 3, 105, (1977)

87. Rambeck, W., H. Beck
Charakterisierung und Verträglichkeit der Lipidfraktion.
Fette, Seifen, Anstr. 80 (Sonderh.), 604,(1978)

88. Rosenzweig, M.
Protein from methanol.
Chem. Eng. 1, 62, (1974)

89. Roth, F.X., M. Kirchgeßner
N-Ausnutzung und N-Bewertung steigender Gaben von Bakterien- und Sojaprotein bei wachsenden Schweinen.
Zeitschr. Tierphysiol.,Tierern.,Futtermittelkde. 39, 156, (1977)

90. Rozin, P., J. Kalat
Specific hungers and poison avoidance as adaptive spezializations of learning.
Psych. Rev. 78, 459, (1971)

91. Sachs, L. Statistische Auswertungsmethoden.
IV. Auflage. Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York (1973)

92. Salter, D.N., M.E. Coates
The influence of the microflora of the alimentary tract on protein digestion in the chick.
Br. J. Nutr. 26, 55, (1971)

93. Sambeth, W., U. Faust
Erzeugung von Single-Cell Produkten.
Fette, Seifen, Anstr. 80 (Sonderh.), 592, (1978)

94. Scharrer, E., H. Zucker
Untersuchungen über den Verzehrsrückgang bei proteinreicher Ernährung.
I. Spezifisch dynamische Wirkung und Schmackhaftigkeit.
Zeitschr. Tierphysiol., Tierern., Futtermittelkde. 22, 133, (1967)

95. Scharrer, E., H. Erbersdobler, H.H. Zucker
Untersuchungen über den Verzehrsrückgang bei proteinreicher Ernährung.
2. Beziehungen zwischen Futterverzehr und freien Aminosäuren im Plasma nach unterschiedlicher Adaptation an proteinreiche Fütterung.
Zeitschr. Tierphysiol., Tierern., Futtermittelkde. 22, 265, (1967)

96. Scharrer, E., N. Geary
Regulation der Futteraufnahme bei Monogastriden.
Übers. Tierern. 5, 103, (1977)

97. Schiller, K. Ein Stoffwechselkäfig für Ratten.
Zeitschr. Tierphysiol., Tierern., Futtermittelkde. 15, 305, (1960)

98. Schiller, K., K. Šimeček, H.J. Oslage
Mikrobiell produzierte Eiweißfuttermittel in der Tierernährung. 1. Mitteilung. Untersuchung zur ernährungsphysiologischen Bewertung des Proteins von Hefen, gewachsen auf Rohöl-, n-Paraffinen und anderen Substraten.
Zeitschr. Tierphysiol., Tierern., Futtermittelkde. 30, 246, (1972)

99. Schulz, E. Zusammensetzung und Nährwert von biotechnischen Proteinen.
Landwirtsch. Forsch. Sonderheft 31/II, 75, (1974)

100. Schulz, E., H.J. Oslage
Analytische und tierexperimentelle Untersuchungen zur ernährungsphysiologischen Qualität von biotechnischem Protein sowie dessen Ergänzungsmöglichkeiten.
Ber. Ldw. Sonderh. 192, 607, (1975)

101. Schulz, E., H.J. Oslage
Composition and nutritive value of single cell protein (SCP).
Anim. Feed - Sci. Technol. 1, 9, (1976)

102. Schürch, A.
Die Bedeutung der Tierproduktion für die Sicherung der zukünftigen Ernährung.
Landwirtsch. Forsch. Sonderheft 31/I, 25, (1975)

103. Sclafani, A., D. Springer, L. Kluge
Effects of quinine adulterated diets on the food intake and body weight of obese and non-obese hypothalamic hyperphagic rats.
Physiol. Behav. 16, 631, (1976)

104. Shannon, D.W.F., J.M. Mc Nab
The digestibility of the nitrogen, amino acids, lipid, carbohydrates, ribonucleic acid and phosphorus of an n-paraffin-grown yeast when given to colostomised laying hens.
J. Sci. Fd. Agric. 24, 37, (1973)

105. Snyder, H.E.
Microbial sources of protein.
Adv. Food Res. 18, 85, (1970)

106. Soeder, C. Zur Verwendung von Mikroalgen für Ernährungszwecke.
Naturwissenschaften 63, 131, (1976)

107. Söhngen, N. L.
Benzin, Petroleum, Paraffinöl und Paraffin als Kohlenstoff- und Energiequelle für Mikroben.
Zentr. Bakteriol. Parasitenkde. Abt.II, 37, 595, (1913)

108. Stillings, B.R.
World supplies of animal protein. p.11
In:"Proteins in human nutrition" (J.W.G. Porter and B.A. Rolls,eds.)
Academic Press, London - New York (1973)

109. Slump, P. A comparative study with pigs, poultry and rats of the amino acid digestibility of diets, containing crude protein with diverging digestibilities.
Zeitschr. Tierphysiol.,Tierern.,Futtermittelkde. 39, 257, (1977)

110. Thomas, K. Über die biologische Wertigkeit der Stickstoffsubstanzen in verschiedenen Nahrungsmitteln. Beiträge zur Frage nach dem physiologischen Stickstoffminimum. Arch. Anat. u. Physiol. Abt.,219, (1909)

111. Tiews, J., J. Gropp, V.Schulz, H.Erbersdobler, H.Beck
Alkanhefen in der Geflügelernährung. 3. Mitteilung. Kükenmastversuche mit Alkanhefen in praxisnahen und halbsynthetischen Rationen. Zeitschr. Tierphysiol.,Tierern.,Futtermittelkde. 34, 86, (1974)

112. Udes, H., H. Hiller
Untersuchungen zur Aminosäurenverfügbarkeit von Sojaprotein bei adulten Ratten. Zeitschr. Tierphysiol.,Tierern.,Futtermittelkde. 33, 227, (1974)

113. Uhlemann, H., S. Poppe
Vergleichende Untersuchungen über die N-Ausscheidungen unter verschiedenen Ernährungsbedingungen im Hinblick auf eine Verallgemeinerungsfähigkeit des N-Erhaltungsbedarfs. Arch. Tierern. 20, 153, (1970)

114. Ulbricht, G.
Einige Probleme der Welteiweißsituation. Ernährungsforschung 1, 14, (1975)

115. Wagner, F. (editor)
1. Symposium Mikrobielle Proteingewinnung. 20. u. 21.3.1975, Braunschweig-Stöckheim. Verlag Chemie Gmbh, Weinheim/Bergstraße(1975)

116. Waldroup, P.W., J.R. Payne
Feeding value of methanol - derived single cell protein for broiler chicks. Poultry Sci. 53, 1039, (1974)

117. Walz, O.P., F. Koch, H. Brune
Untersuchungen zu einigen Qualitätsmerkmalen der Grünalge Scenedesmus acutus an Schweinen und Küken. Zeitschr. Tierphysiol.,Tierern.,Futtermittelkde. 35, 55, (1975)

118. Whittemore, C.T., J.W. Moffat
The digestibility of dried microbial cells grown on methanol in diets for growing pigs. J. agric. Sci. 86, 407, (1976)

119. Whittemore, C.T., J.W. Moffat, A.G. Taylor
Evaluation by digestibility, growth and slaughter of microbial cells as a source of protein for young pigs.
J. Sci. Fd. Agric. 27, 1163, (1976)

120. Worgan, J.T. World supplies of protein from unconvential sources. p. 47
In: "Proteins in human nutrition",(J.W.G. Porter and B.A. Rolls,eds.),
Academic Press, London - New York (1973)

121. Zebrowska, T., O. Simon, R. Münchmeyer, H. Bergner
Untersuchungen zur Sezernierung endogener Aminosäuren in den Verdauungstrakt und zur Aminosäurenresorption beim Schwein.
Arch. Tierern. 26, 69, (1976)

122. Zucker, H. Abfallverwertung aus der Sicht des Physiologen.
Kraftfutter 1, 10, (1977)

123. - - PAG Guideline No. 6, 13. März 1970, S.231, for pre-clinical testing of novel sources of protein.
PAG Guideline No. 7, 10. Juni 1970, S.252, for human testing of supplementary food mixtures.
In: "Proteins from hydrocarbons",(ed. by Gounelle de Pontanel);
Academic Press, London - New York (1972)

124. - - Protein-Calorie Advisory Group of the united nations system. PAG Guideline No.15 on nutritional and safety aspects of novel protein sources for animal feeding.
New York (1974).

Nachtrag:

125. Niess, E. Einzellereiweiß als Konkurrenz für Soja und Fischmehl ?
Deutsche Geflügelwirtsch.,Schweineprod. 30, 674, (1978)

Nach Beendigung dieser Arbeit möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Erbersdobler für die Überlassung des Themas und seine jederzeit gewährte freundliche Unterstützung bei der Durchführung meiner Untersuchungen herzlich bedanken.

Fräulein Evi Lainer und Herrn Manfred Fischer sei für ihre Mithilfe gedankt.

Lebenslauf

Am 3. 11. 46. wurde ich, Reinhard Müller-Landau als Sohn des Konzertpianisten Julius Müller-Landau und seiner Ehefrau Ruth Müller-Landau, geb. Gehm in München geboren.
Nach dem Besuch der Volksschule von 1953 - 1957 trat ich anschließend in das Wittelsbacher Gymnasium, neusprachlicher Zweig, ein. Von der mittleren Reife an besuchte ich das musische Gymnasium in München, wo ich 1968 das Abitur ablegte.
Nach einhalb jähriger Tätigkeit auf einem landwirtschaftlichen Lehrbetrieb und Teilnahme an Tierhaltungskursen in der bayrischen Landesanstalt für Tierzucht in Grub begann ich im Sommersemester 1969 das Studium der Tiermedizin in München. Dort legte ich im Mai 1976 das Staatsexamen ab.
Die Bestallung als Tierarzt erhielt ich im Juni 1976.